

На правах рукописи

ИВАНОВ

Илья Андреевич

ОПТИМИЗАЦИЯ ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С ПОЛИПАМИ
ЭНДОМЕТРИЯ НА ОСНОВЕ ИХ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор Чернуха Галина Евгеньевна
кандидат медицинских наук Асатурова Александра Вячеславовна

Официальные оппоненты:

Мальшикина Анна Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н.Городкова, директор института, главный акушер-гинеколог Центрального Федерального Округа.

Леваков Сергей Александрович – доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра акушерства и гинекологии, заведующий кафедрой.

Ведущая организация: ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии».

Защита диссертации состоится «15» сентября 2020 г. в 13.00 ч. на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» по адресу: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ <http://www.science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Ivanov%20I.A.-dissertation.pdf>

Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Патология эндометрия занимает ведущее место в структуре гинекологической заболеваемости, ее наиболее распространенной формой являются полипы эндометрия (ПЭ), которые служат показанием для проведения большинства внутриматочных вмешательств. По данным литературы частота ПЭ колеблется от 7,6 до 34,9% (Nijkang N. et al., 2019; Tanos V. et al., 2017). Столь высокую вариабельность можно объяснить неоднозначностью подходов к оценке частоты ПЭ, что создает трудности для понимания масштабности проблемы и оптимизации путей ее решения. Вместе с тем, она представляется крайне важной с клинической точки зрения, ввиду ассоциированности ПЭ с аномальными маточными кровотечениями (АМК) и бесплодием. Важно отметить, что ПЭ также повышают риск развития рака эндометрия (РЭ), частота которого в последние годы не имеет тенденции к снижению, в связи с чем особое внимание уделяется разработке программ канцеропревенции, предусматривающих своевременную диагностику и адекватную терапию данного заболевания. Однако, недостаточная информативность методов визуальной диагностики и отсутствие четких данных о клинических индикаторах ПЭ приводят к достаточно высокой частоте расхождения диагнозов и, зачастую, к необоснованным оперативным вмешательствам (Tanos V. et al., 2017; Clark T.J. et al., 2016). Еще одной важной проблемой является высокая частота рецидивов ПЭ, которая варьирует от 13,3% до 21,5%, а по некоторым данным достигает 43-45,5% (Paradisi R. et al., 2017; Yang J. et al 2016; Gu F. et al., 2018). Следствием этого являются повторные хирургические вмешательства, повышающие риск формирования внутриматочных синехий, снижающие качество жизни женщин и имеющие неблагоприятные социально-экономические последствия. Высокая частота рецидивирования ПЭ, вероятно, связана с тем, что принятые в настоящее время принципы терапии, заключающиеся лишь в их удалении, не приводят к

элиминации этиологических факторов и не оказывают влияния на механизмы формирования ПЭ.

Проблемы, ассоциированные с ПЭ, ставят вопрос о совершенствовании тактики ведения пациенток, включая возможность проведения вторичной профилактики. Внедрение в клиническую практику новых методов исследования, прогресс в понимании молекулярно-биологических основ регуляции и функционирования эндометрия, сложных взаимодействий между сигнальными путями, регулирующими процессы пролиферации, апоптоза и ангиогенеза, а также их эпигенетических модификаций, создают предпосылки для пересмотра существующих и разработки новых методов лечения данного заболевания. Оптимизация тактики ведения больных с ПЭ возможна путем дальнейшего изучения патогенетических механизмов их формирования на новом методологическом уровне, путем накопления фактического материала, осмысления полученных данных в контексте с клинической симптоматикой с целью разработки конкретных рекомендаций для ежедневной практической деятельности.

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на высокую распространенность ПЭ, их важный вклад в генез АМК, значительную частоту рецидивов, число научных исследований по данной проблеме существенно меньше, чем по другим пролиферативным заболеваниям эндо- и миометрия (Tanos V. et al., 2017; Clark T.J. et al., 2016; Paradisi R. et al., 2017). Вопросы этиологии и механизмов формирования ПЭ, которые лежат в основе совершенствования принципов профилактики их возникновения и рецидивирования, зачастую оказываются вне фокуса внимания исследователей.

Известно, что в генезе ПЭ важная роль принадлежит активации пролиферации и ангиогенеза, между тем механизмы, индуцирующие данные процессы остаются предметом дискуссий. Результаты исследований о гормональной зависимости ПЭ достаточно противоречивы, что требует более

глубокого изучения рецепторного фенотипа эндометрия с перспективой применения гормональной терапии (Leao R. et al., 2013; Коган Е.А. и соавт., 2014; Dominick S. et al., 2015). Наряду с этим практически отсутствуют сведения о роли сигнальных путей в формировании ПЭ, в частности, Wnt-сигнального каскада, усиливающего пролиферативный, ангиогенный и злокачественный потенциал эндометрия. Нет точных сведений о факторах, опосредующих клиническую манифестацию и риск рецидивов ПЭ, что обуславливает высокую частоту повторных оперативных вмешательств и травматизацию эндометрия. Дальнейшее изучение механизмов формирования ПЭ и факторов риска их рецидивов, может явиться основой для разработки патогенетически обоснованных методов вторичной профилактики, необходимых для оптимизации алгоритма ведения пациенток с данным заболеванием.

Цель исследования

Оптимизация тактики ведения пациенток с полипами эндометрия на основе изучения их клинико-морфологических и молекулярно-биологических характеристик.

Задачи исследования

1. Провести ретроспективный анализ частоты выявления ПЭ в различные возрастные периоды и определить их долю в структуре внутриматочной патологии.
2. Выявить наиболее значимые факторы риска и особенности клинического течения ПЭ на основе изучения анамнеза, соматического и репродуктивного здоровья женщин.
3. Оценить взаимосвязь клинической манифестации ПЭ с экспрессией ангиогенных факторов (CD34, CD105, VEGF-A) и морфометрическими характеристиками ПЭ.

4. Провести оценку экспрессии различных изоформ эстрогеновых (α и β) и прогестероновых рецепторов (А и В) в ПЭ по сравнению с эндометрием здоровых женщин.
5. Изучить статус метилирования гена WIF1 в ПЭ, как маркера активности Wnt-сигнального пути.
6. Объективизировать подходы к вторичной профилактике ПЭ с учетом их иммуногистохимических и эпигенетических характеристик.

Научная новизна исследования

На основе ретроспективного анализа получены данные о частоте выявления ПЭ в возрастном аспекте и их доли в структуре внутриматочной патологии. Определена частота различных типов АМК при ПЭ и их взаимосвязь с гистологическими и морфологическими особенностями ПЭ. Установлено, что одной из причин возникновения АМК при ПЭ являются структурные нарушения сосудистой стенки их ножки. Определена прямая взаимосвязь морфологических изменений сосудов, ассоциированных с АМК, с избыточной активностью индуктора ангиогенеза VEGF-A и вероятные причины его повышения. Получены также новые данные об усилении экспрессии маркеров активности ангиогенеза (CD105) и сосудистой плотности (CD34) в образцах ПЭ.

Установлена роль дисбаланса различных изоформ рецепторов ($\text{ЭР-}\alpha$, $\text{ЭР-}\beta$, ПР-А, ПР-В), опосредующих разнонаправленное влияние эстрогенов и прогестерона на эндометрий, в генезе ПЭ. Определено, что ПЭ возникают на фоне повышения уровней $\text{ЭР-}\alpha$ и ПР-В, обуславливающих усиление пролиферативной активности, относительно уровней $\text{ЭР-}\beta$ и ПР-А, определяющих ингибирование пролиферации.

Новым аспектом работы является исследование статуса метилирования гена WIF1 в ПЭ, позволившее почти в 2/3 случаев выявить его аномальное метилирование, ассоциированное с активацией Wnt-сигнального пути, опосредующего индукцию клеточной пролиферации и ангиогенеза.

Определены нарушения, предрасполагающие к возникновению рецидивов ПЭ, в виде гиперметилирования гена WIF1 и избыточной экспрессии маркера активности ангиогенеза CD105. Получены новые данные об эффективности ЛНГ-ВМС, как метода вторичной профилактики ПЭ, установлены некоторые механизмы протективного влияния левоноргестрела на эндометрий, способствующие предотвращению повторного возникновения ПЭ.

Практическая значимость полученных результатов

Установлено, что ПЭ, независимо от возраста, доминируют в структуре патологии эндометрия, их частота примерно в 5 раз выше, чем гиперплазии эндометрия (ГЭ). Уточнены клинические индикаторы ПЭ, к их числу следует относить АМК, возникающие на фоне регулярного ритма менструаций в виде обильных менструальных кровотечений (ОМК), межменструальных кровотечений (ММК) или их сочетания, определена информативность УЗИ органов малого таза, диагностическая значимость которого относительно низкая при ПЭ малого размера.

Установлено, что в течение первого года после гистерорезектоскопии рецидив ПЭ можно ожидать у каждой 6-й пациентки, независимо от возраста, массы тела, паритета, сопутствующей гинекологической и экстрагенитальной патологии. Выявлено, что повышение экспрессии маркера ангиогенной активности CD105 и наличие аномального метилирования гена WIF1 можно рассматривать в качестве предикторов возникновения рецидива ПЭ. Эти показатели послужили основой для разработки математической модели прогнозирования риска рецидива ПЭ, ее использование позволяет объективизировать подходы к вторичной профилактике ПЭ.

Установлено, что использование ЛНГ-ВМС обеспечивает эффективную вторичную профилактику формирования ПЭ, независимо от гистологической формы ПЭ и состояния прилежащего эндометрия. На основе полученных данных определена тактика ведения пациенток с ПЭ, направленная на снижение частоты внутриматочных вмешательств.

Положения, выносимые на защиту

1. Частота выявления полипов эндометрия в структуре внутриматочной патологии составляет 58,0% и прогрессивно увеличивается с возрастом. Полипы эндометрия формируются на фоне дисбаланса стероидных рецепторов в виде снижения экспрессии изоформ, опосредующих антипролиферативный и туморосупрессивный эффект (ЭР- β и ПР-А) на эндометрий, повышения экспрессии изоформы, обуславливающей пролиферативное действие (ПР-В), а также в условиях патологической активации ангиогенеза и гиперметилирования промоторного участка гена WIF1, отражающего активацию Wnt-сигнального пути.
2. Полипы эндометрия в каждом втором случае манифестируются АМК по типу обильных менструальных кровотечений, в каждом третьем по типу межменструальных кровотечений, реже - при их сочетании, что определяется диаметром и числом ПЭ, и не зависит от их гистологического типа. АМК возникают на фоне активации ангиогенеза и структурных нарушений сосудистой ножки в виде увеличения диаметра и истончения стенки сосудов, наиболее выраженных при сопутствующем хроническом эндометрите.
3. Риск рецидивов ПЭ, возникающих через 12 месяцев у каждой 6-ой пациентки, выше на фоне аномального метилирования WIF1 и повышения экспрессии CD105. Локальное воздействие левоноргестрела, снижающее пролиферацию железистого компонента эндометрия и экспрессию стероидных рецепторов, обеспечивает вторичную профилактику ПЭ, независимо от их гистологической формы и состояния прилежащего эндометрия.

Личный вклад автора

Автором проведен анализ медицинских ресурсов по теме исследования, по его результатам подготовлен аналитический обзор, определены критерии включения и исключения пациенток в исследование, дизайн исследования. Автор

осуществлял сбор материала, участвовал в клинико-лабораторном исследовании, ведении и динамическом наблюдении пациенток, выполнил морфометрическое исследование. Результаты полученных исследований были систематизированы, проанализированы и статистически обработаны. Сформулированы выводы, установлены научная новизна и практическая значимость проведенных исследований.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность данных исследования подтверждается объемом выборки пациенток, включенных в исследование (192), а также результатами статистической обработки данных.

Соответствие диссертации паспорту полученной специальности

Научные положения диссертации соответствуют специальности 14.01.01 – «акушерство и гинекология», полученные результаты соответствуют области исследования по специальности, пунктам 3, 4, 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Апробация диссертации

Основные положения диссертации и результаты работы были представлены и доложены на VI Научно-практической конференции «Добротинские чтения» (Нижний Новгород, 29-30 марта 2018 г), XXIV Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья» (Москва, 3-5 апреля 2018), XIII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 21-24 января 2019), XII Региональном научном форуме «Мать и Дитя» (Сочи, 26-28 июня 2019 г), Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 25-27 сентября 2019), XXXIII Международном конгрессе с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2-4 июня 2020).

Диссертационная работа обсуждена на межклинической конференции (09.07.2019) и на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (02.12.2019, протокол №8).

Внедрение результатов исследования в практику

Рекомендации по ведению пациенток с ПЭ, включая методы их вторичной профилактики, внедрены в практическую деятельность отделения гинекологической эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Материалы диссертации используются в лекционных материалах на семинарах, симпозиумах, форумах. По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 6 - в рецензируемых научных изданиях.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 151 странице компьютерного текста, состоит из введения, четырех глав, посвященных описанию материалов и методов исследования, полученным результатам и их обсуждению, а также выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Диссертационная работа иллюстрирована 31 рисунком и 18 таблицами. Библиография содержит 197 источников литературы по теме диссертации, в том числе 21 отечественный и 176 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и Методы исследования

На первом этапе исследования, с целью определения частоты выявления ПЭ в структуре внутриматочной патологии был проведен ретроспективный анализ 4059 гистологических заключений соскобов и биоптатов ткани эндометрия,

произведенных в ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И.Кулакова МЗ РФ» в 2016г.

Второй этап работы включал клинико-лабораторное обследование 192 пациенток, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И.Кулакова МЗ РФ» в 2017 - 2019 гг. Основную группу составили 132 пациентки с ПЭ (средний возраст $35,5 \pm 7,0$ лет). Критериями включения явились возраст от 18 до 50 лет, наличие гистологически подтвержденного ПЭ и получение информированного согласия на участие в исследовании. Критериями исключения послужили другие заболевания, которые могли являться причиной АМК (миома с центрипетальным или субмукозным ростом узла, аденомиоз II-III ст, коагулопатии), тяжелая экстрагенитальная и онкопатология, а также прием гормональных препаратов в течение 3 месяцев, предшествовавших включению в исследование. В группу контроля были включены 60 женщин ($36,1 \pm 6,0$ лет) не имеющих пролиферативных заболеваний эндометрия, а также тяжелой экстрагенитальной патологии, эндометрий которых, согласно гистологическим заключениям, соответствовал стадии пролиферации (СтП).

На третьем этапе работы было проведено проспективное исследование, в рамках которого в течение 12 месяцев после полипэктомии проводилось динамическое наблюдение за пациентками с УЗ-мониторингом состояния органов малого таза 1 раз в 6 месяцев. В качестве вторичной профилактики 27 женщинам с ПЭ, не заинтересованным в беременности, была введена ЛНГ-ВМС (Мирена). Для оценки состояния слизистой оболочки матки после 12 месяцев терапии, пациенткам была произведена биопсия эндометрия аспирационными кюретками Пайпель де Корнье.

Помимо общеклинического обследования, УЗИ органов малого таза, эндоскопического (гистерорезектоскопия) и гистологического исследований, произведенных по стандартным протоколам, методом компьютерной морфометрии была проведена оценка структурных особенностей железистого и

стромального компонентов ПЭ, морфологии артерий и артериол. Иммуногистохимическим методом проводился анализ экспрессии изоформ рецепторов к половым гормонам, опосредующих пролиферативное (ЭР- α , ПР-В) и антипролиферативное (ЭР- β , ПР-А) действие на эндометрий. Данный метод использовался также для определения экспрессии маркеров ангиогенеза: CD34 (показатель микрососудистой плотности), CD105 (белок, отражающий активность ангиогенеза) и VEGF-A (основной индуктор ангиогенеза). Метод бисульфитного секвенирования применялся для выявления метилирования гена WIF1 – ключевого супрессора Wnt-сигнального пути.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Statistica» v.10.0. Для оценки вероятности возникновения рецидивов ПЭ был использован метод регрессионного анализа.

Результаты исследования и их обсуждение

На основе анализа 4059 гистологических заключений было установлено, что наиболее распространенной формой внутриматочной патологии являются ПЭ, их частота составила 27,4% (n=1113). В 6 (0,5%) образцах ПЭ были обнаружены признаки атипии, в одном (0,09%) – выявлена аденокарцинома эндометрия, в остальных – ПЭ были доброкачественными. Наиболее распространенной сопутствующей патологией при ПЭ являлся хронический эндометрит (ХЭ), выявленный у каждой пятой пациентки – 19,77%. В 3,41% случаев ПЭ сочетались с ГЭ без атипии, в 0,36% – с атипической гиперплазией эндометрия (АГЭ). В остальных (76,5%) образцах ПЭ выявлялись на фоне эндометрия стадии пролиферации или секреции. В 2,7 раза реже, чем ПЭ, был диагностирован ХЭ – 422 (10,4%) случая, еще реже ГЭ – 233 (5,8%) случая, другие формы внутриматочной патологии являлись редкой находкой, что согласуется с литературными данными (Abid M. et al., 2014; Carpas P. et al., 2016). Без учета образцов неизмененного эндометрия, доля ПЭ достигает 58,0%, значительно превышая частоту выявления других патологических состояний эндометрия, что

свидетельствует об их доминировании в структуре внутриматочной патологии (рис. 1).

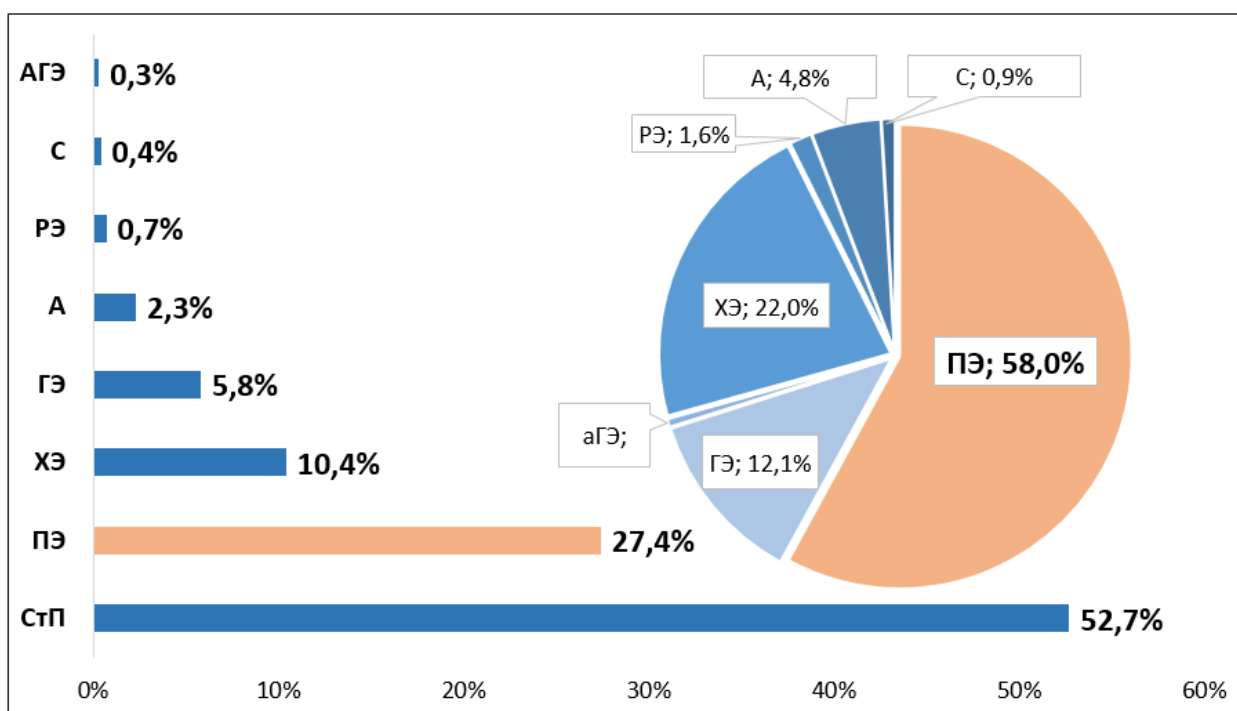


Рисунок 1. Структура морфологического состояния эндометрия. АГЭ – атипическая гиперплазия эндометрия; С – синехии полости матки; РЭ – рак эндометрия; А-атрофия эндометрия; ГЭ – гиперплазия эндометрия, ХЭ – хронический эндометрит; ПЭ – полипы эндометрия; СтП – неизменный эндометрий стадии пролиферации.

Для оценки частоты представленности патологии эндометрия в возрастном аспекте, все пациентки были разделены на 5 возрастных групп (рис. 2). Полученные результаты продемонстрировали, что во всех группах наиболее распространенной формой патологии были ПЭ. Частота их выявления с возрастом увеличивалась: от 21,7% в раннем репродуктивном возрасте до 45% в постменопаузе ($p < 0,001$). Полученные данные позволяют сделать вывод, что ПЭ являются основным показанием для проведения внутриматочных вмешательств, независимо от возраста.

Обращает внимание тот факт, что более чем в половине (52,7%) случаев в биоптатах эндометрия патологических изменений не выявлено. В литературе

можно встретить схожие данные о высоком проценте отсутствия патологии эндометрия при гистероскопиях, что можно объяснить их выполнением при большинстве лапароскопических операций, при неэффективных попытках экстракорпорального оплодотворения, а также с целью контроля морфологического состояния эндометрия после проведенной терапии по поводу ГЭ или ХЭ (Analizi O. et al., 2017).

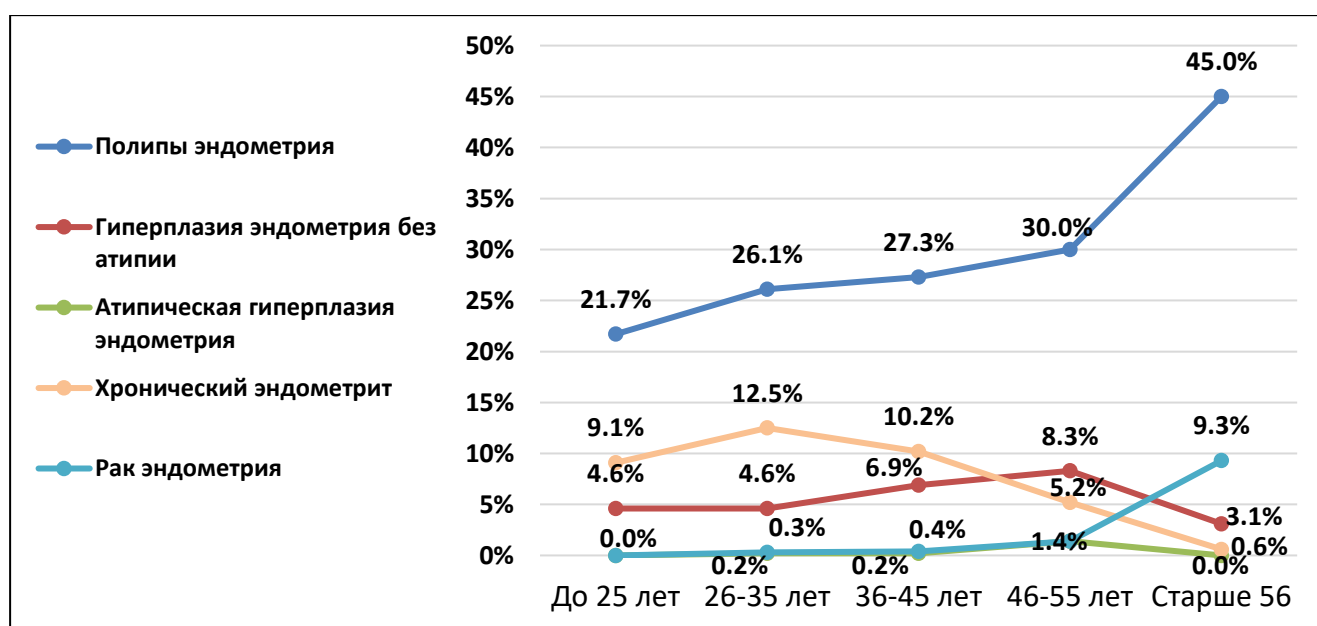


Рисунок 2. Частота выявления основных видов патологии эндометрия в различные возрастные периоды.

Другой вероятной причиной может стать недостаточно высокая чувствительность и специфичность УЗИ, которое в данный момент является основным методом выявления ПЭ (Nijkang N. et al., 2019; Fadl S. et al., 2018). Проведенный анализ диагностической точности УЗИ, результаты которого представлены в таблице 1, показал, что данный метод позволил выявить признаки ПЭ у 110 пациенток, однако морфологический диагноз подтвердился лишь у 83 (75,5%) женщин. Одновременно с этим, среди 132 гистологически верифицированных ПЭ, диагноз ПЭ при ранее произведенном УЗИ был установлен всего у 83 (62,9%) женщин. Полученные данные свидетельствуют о том, что УЗИ обладает недостаточно высокой чувствительностью – 62,9% и

специфичностью – 76,1% в отношении выявления ПЭ, что приводит как к гипо-, так и гипердиагностике.

Наибольшие трудности в диагностике отмечены при размерах ПЭ менее 0,6 см: чувствительность УЗИ составила 52,9%, а специфичность 41,7%. Был рассчитан показатель прогностической ценности положительного результата (ПЦПР), который отражает вероятность морфологического подтверждения ПЭ при его выявлении по УЗИ.

Таблица 1. Информативность УЗИ для диагностики ПЭ.

	Чувствительность	Специфичность	ПЦПР	ПЦОР
Все ПЭ	62,9%	76,1%	75,5%	63,7%
<0,6 см	52,9%	41,7%	56,3%	38,5%
0,6-1,0 см	80,0%	32,0%	75,4%	38,1%
>1,0 см	86,4%	50,0%	90,5%	40,0%
АМК+	60,3%	72,1%	73,4%	58,7%
АМК-	66,7%	81,5%	78,3%	71,0%

При ПЭ более 1 см такая вероятность составила более 90,5%, при ПЭ менее 0,6 см – лишь 56,3%. Обращает внимание, что наличие АМК существенно не снижало показатели диагностической точности УЗИ. Полученные данные о недостаточной точности УЗИ и высокой частоте образцов эндометрия без патологических признаков в ретроспективном исследовании ставят вопрос о необходимости проведения более тщательной диагностики внутриматочной патологии на догоспитальном этапе, а также об уточнении показаний к проведению одномоментной гистероскопии с биопсией эндометрия при лапароскопических операциях, с целью снижения числа необоснованных внутриматочных вмешательств. При выявлении ПЭ менее 0,6 см по данным УЗИ у пациенток, не предъявляющих жалобы на АМК или бесплодие, представляется целесообразным ограничиться динамическим наблюдением или же использовать более чувствительный метод – соногистерографию для определения дальнейшей тактики ведения. Полученные данные подтверждают международные

рекомендации, в которых указывается на целесообразность придерживаться выжидательной тактики при бессимптомных ПЭ малых размеров, в виду низкой вероятности их малигнизации (Lieng M. et al., 2015; Marnach M. et al., 2019).

Одной из задач исследования являлась оценка факторов риска развития ПЭ. Согласно результатам однофакторного анализа, клинико-анамнестические данные, включая возраст, ИМТ, гинекологический и соматический анамнез существенно не влияют на риск формирования ПЭ, тогда как наличие эндометриоза повышает вероятность их возникновения в 1,35 раз ($p=0,004$), а проведенная ранее полипэктомия – в 1,43 раза ($p<0,001$).

Более половины (56,9%) пациенток с ПЭ предъявляли жалобы на АМК, в каждом втором случае (48,6%) они проявлялись ОМК, в каждом третьем (34,3%) - ММК, реже (17,1%) – их сочетанием (ОМК+ММК) (рис 3). ОМК на фоне олигоменореи во всех случаях были связаны с ГЭ, в том числе с АГЭ в ПЭ. Эти результаты указывают на то, что ПЭ проявляются различными типами АМК, но возникают, как правило, на фоне регулярного ритма менструации, тогда как для ГЭ характерно чередование АМК с олигоменореей.

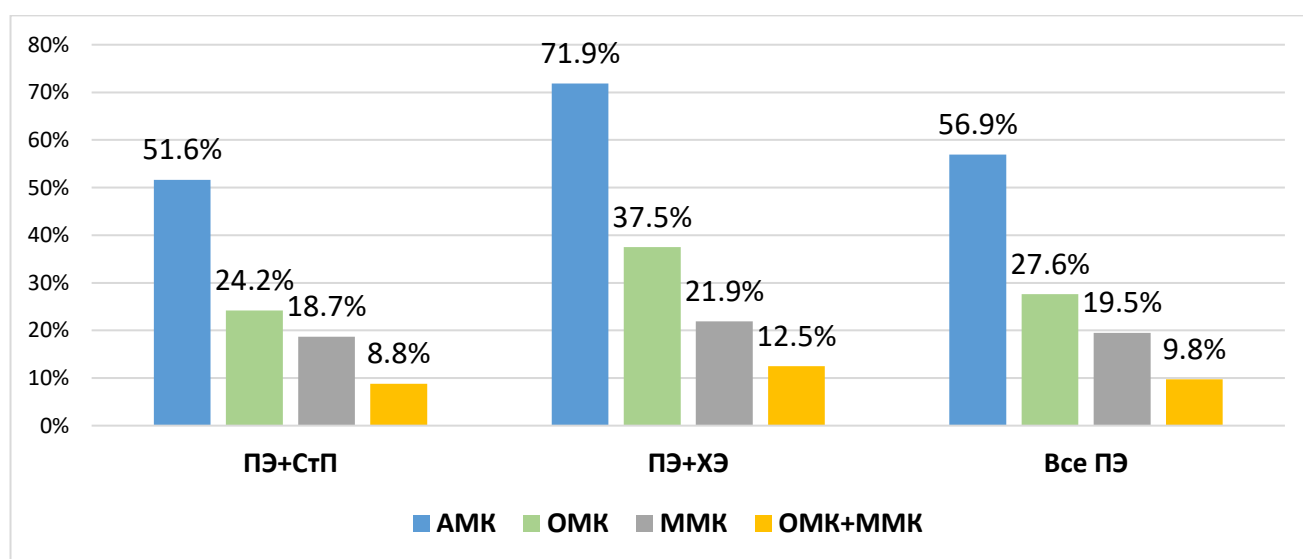


Рисунок 3. Частота и структура АМК при ПЭ с учетом морфологического состояния прилежащего эндометрия.

В настоящее время отсутствует четкое представление о механизмах, провоцирующих АМК при ПЭ. Как оказалось, на характер АМК влияет диаметр и число ПЭ. В частности, доля ОМК увеличивалась, а ММК снижалась практически в 3 раза при ПЭ больших размеров по сравнению с малыми. Схожим образом, по сравнению с единичными ПЭ, при множественных частота ОМК выросла в 2 раза, а ММК снизилась втрое. Отмечено, что АМК на 20,3% чаще встречались при сочетании ПЭ с ХЭ, чем при ПЭ на фоне СтП (ОР=2,39; 95% ДИ [1,05; 5,96]; $p=0,04$). Это может быть связано с повреждающим действием провоспалительных цитокинов и протеолитических ферментов лейкоцитов на сосудистую ножку ПЭ (Fritz M. et al., 2010).

Результаты проведенной компьютерной морфометрии свидетельствуют о морфологических нарушениях кровеносных сосудов в ПЭ. При АМК средний диаметр сосуда составил 70,7 мкм, при бессимптомных ПЭ - 60,3 мкм ($p=0,03$) (рис. 4А,Б). При АМК наблюдалось также истончение сосудистой стенки до 18,7 мкм, в то время как при отсутствии клинических проявлений – толщина стенки составила 24,8 мкм ($p=0,02$). Отмечено, что в ПЭ, выявленных на фоне ХЭ, истончение стенок и увеличение диаметра сосудов было более выраженным, чем в ПЭ на фоне СтП. Увеличение просвета сосудов, может быть связано с застоем крови, что приводит к повышению давления в микрососудистом русле, разрыву эндотелия сосудов и появлению АМК. Этому способствует также истончение стенки микрососудов, предположительно возникающее за счет снижения количества перицитов и гладкомышечных клеток. (Schatz F. et al., 2016; Kayisli U. et al., 2015).

Результаты ИГХ-исследования указывают на то, что структурные изменения сосудов ассоциированы с патологическим ангиогенезом. В образцах ПЭ уровень экспрессии CD34, CD105 и VEGF-A был в 2-4 раза выше, чем в эндометрии СтП ($p<0,001$). Это позволяет сделать вывод о чрезмерной активности ангиогенеза, что согласуется с гипотезой о его вовлеченности в патогенез ПЭ (Nijkang N. et al., 2019). Следует отметить, что экспрессия VEGF-A в ПЭ

находилась в прямой зависимости от диаметра сосуда ($R=0,49$; $p=0,01$) и обратной – от толщины его стенки ($R=0,63$; $p<0,001$) (рис. 4В,Г). Можно предположить, что высокая экспрессия VEGF-A нарушает морфологию сосудов и является одним из факторов возникновения АМК. Механизмы, индуцирующие синтез VEGF-A в ПЭ, остаются до конца неясными. Однако полученные данные о более высоких уровнях экспрессии VEGF-A в ПЭ, сочетающихся с ХЭ, позволяют сделать предположение, что хронический воспалительный процесс способствует синтезу VEGF, индукции патологического ангиогенеза, усугубляет структурные изменения сосудов и повышает вероятность возникновения АМК.

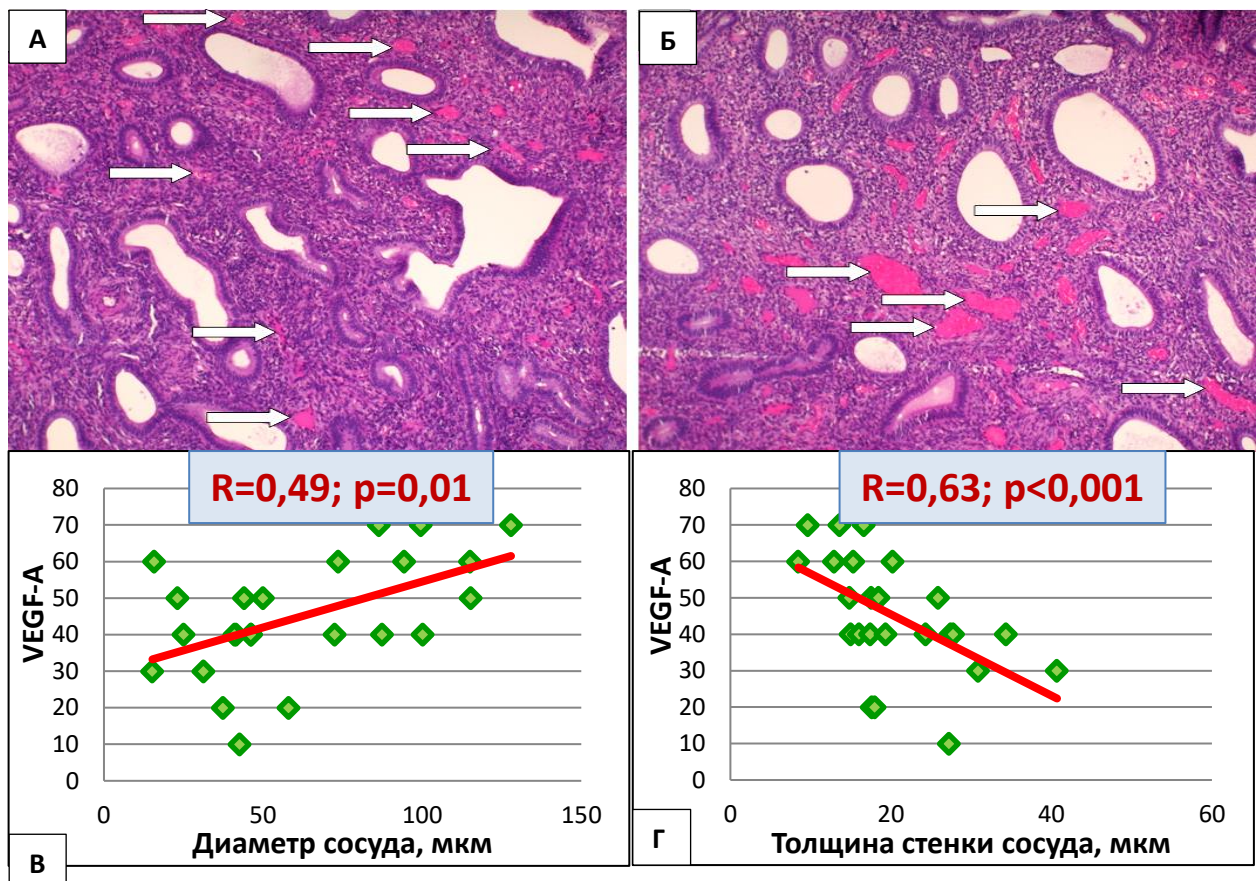


Рисунок 4. Морфометрическая характеристика структуры ПЭ. Стрелками указаны кровеносные микрососуды. А: ПЭ без клинической симптоматики. Б: ПЭ, проявляющийся АМК. В. Зависимость диаметра сосуда от экспрессии VEGF-A. Г. Зависимость толщины сосудистой стенки от экспрессии VEGF-A.

Данные о двукратном повышении экспрессии VEGF-A в эндометрии, прилежащем к ПЭ, по сравнению с эндометрием СтП свидетельствуют о повышенном ангиогенном потенциале не только в ПЭ, но и в окружающем

эндометрии, что может приводить к появлению очагов избыточной васкуляризации и в дальнейшем к формированию ПЭ. Это указывают на целесообразность терапевтического воздействия на всю поверхность эндометрия, а не только на зону сосудистой ножки. В связи с этим принятое в настоящее время за «золотой стандарт» резектоскопическое удаление ПЭ может не препятствовать последующему их росту, поскольку не способно оказывать влияние на окружающий эндометрий.

На основе данных компьютерной морфометрии было рассчитано соотношение площади желез и стромы в ПЭ, которое лежит в основе их классификации на железистые, фиброзные и железисто-фиброзные. Оно варьировало от 0,1 до 0,3 и не было связано с наличием АМК, состоянием эндометрия, диаметром ПЭ, а также с какими-либо лабораторными показателями. Полученные данные отражают низкую клиническую значимость классификации ПЭ, основанной на соотношении фиброзного и железистого компонентов эндометрия, и подтверждают целесообразность использования классификации ВОЗ (2014), подразделяющей ПЭ лишь на 2 категории - доброкачественные ПЭ и ПЭ с атипией (Kurman R. et al., 2014).

Одним из важнейших сигнальных путей, индуцирующих пролиферацию, дифференцировку, ангиогенез и малигнизацию является Wnt-путь. Его избыточная активность отмечена при многих онкологических заболеваниях, включая РЭ (Киселев В.И. и соавт., 2018; Kiewisz J. et al., 2015). Одной из основных причин активации Wnt-пути является метилирование гена, кодирующего ключевой супрессор Wnt-каскада - Wnt-ингибирующий фактор 1 (WIF1). Метилирование WIF1 приводит к эпигенетическому «молчанию» гена и потери его супрессивного влияния на Wnt-путь (Киселев В.И. и соавт., 2018). Согласно результатам бисульфитного секвенирования, практически в 2/3 случаях (61,7%) в ПЭ определялось метилирование гена WIF1. Это свидетельствует об избыточной активации Wnt-сигнального пути в ПЭ, в то время как у пациенток без патологии эндометрия случаев метилирования выявлено не было (рис 5).

Установлена взаимосвязь повышения среднего уровня экспрессии CD105 в образцах ПЭ с отмеченным метилированием гена WIF1. Высокая экспрессия CD105 - маркера пролиферации сосудов, может свидетельствовать о стимулирующем влиянии патологической активации Wnt-сигнального пути на ангиогенез в ПЭ. Таким образом, эпигенетические нарушения и активация ангиогенеза могут являться двумя взаимосвязанными механизмами, лежащими в основе формирования ПЭ.

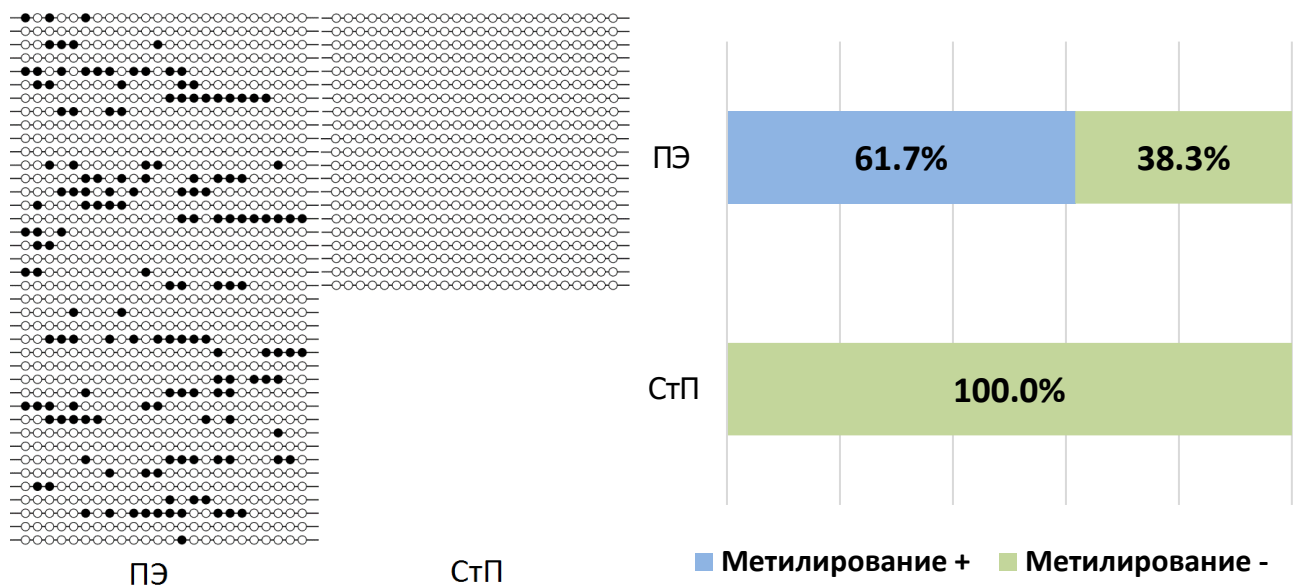


Рисунок 5. Метилирование гена WIF1 в образцах ПЭ и эндометрии стадии пролиферации. ● – Метилированный сайт гена WIF1; ○ – Неметилированный сайт гена WIF1

В качестве важных факторов усиления пролиферативной активности, приводящей к формированию ПЭ, рассматриваются нарушения экспрессии гормональных рецепторов. Однако в научных публикациях, посвященных данной проблеме, представлены зачастую противоречащие друг другу результаты, что вызывает дискуссии о гормонозависимой природе данного заболевания. В проведенном исследовании была предпринята попытка объяснить имеющиеся противоречия на основе более детального изучения рецепторного фенотипа эндометрия с учетом особенностей экспрессии различных изоформ эстрогеновых

(ЭР) и прогестероновых рецепторов (ПР), тогда как в подавляющем большинстве литературных источников приведены данные об экспрессии лишь ЭР- α и ПР-А. Известно, что стимуляция ЭР- α опосредует индуцирующее влияние эстрогенов на пролиферацию и ангиогенез, а также подавляющее воздействие на экспрессию ПР, в то время как стимуляция ЭР- β , напротив, способствует ингибированию пролиферативной активности. ПР-А ответственен за секреторную трансформацию, децидуализацию, индукцию апоптоза, тогда как ПР-В опосредует усиление пролиферации эндометрия (Harangama D. et al., 2015; Kaaya H. et al., 2015).

Уровни экспрессии ЭР- α в ПЭ и эндометрии СтП достоверно не различались. Вместе с тем, экспрессия ЭР- β в ПЭ была снижена по сравнению с эндометрием СтП, как в железах, так и в строме. Уровень ПР-А также оказался сниженным в ПЭ по сравнению с нормальным эндометрием, как в железах, так и в строме, тогда как уровень ПР-В в строме ПЭ был значимо выше, чем в эндометрии СтП. Наиболее наглядно выявленные изменения отражает соотношение изоформ рецепторов, оказывающих разнонаправленное действие на эндометрий: ЭР- α /ЭР- β и ПР-В/ПР-А (рис. 6).

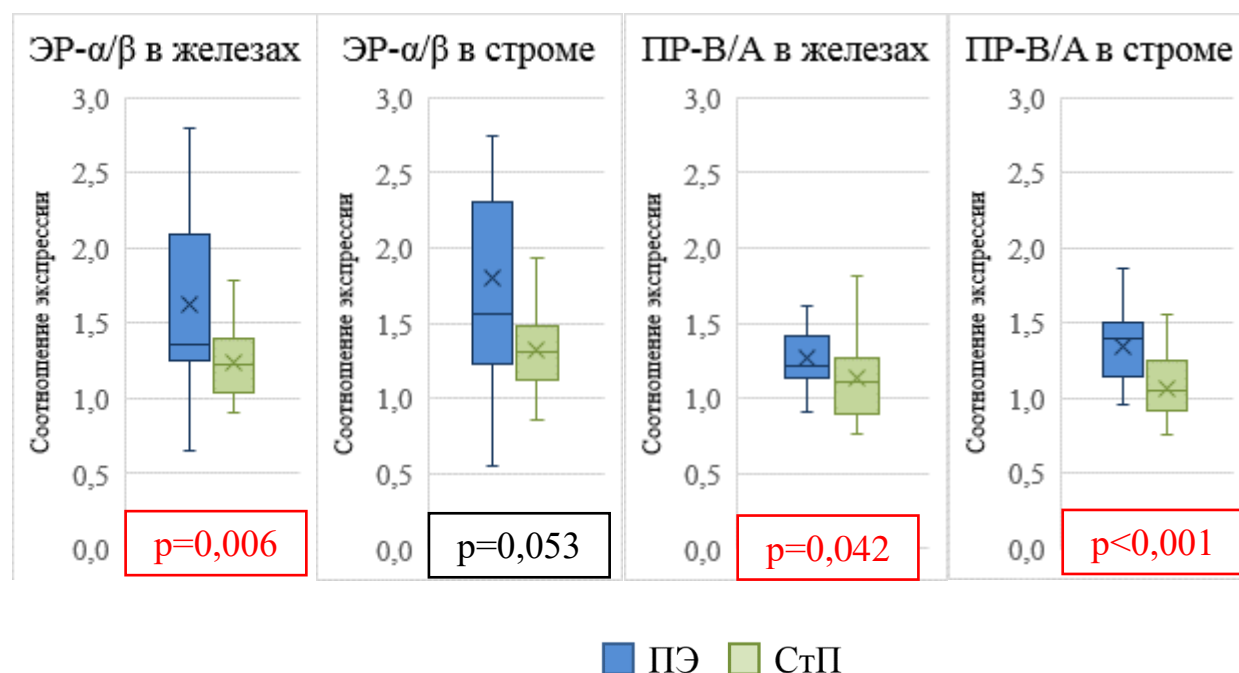


Рисунок 6. Соотношение экспрессии различных изоформ стероидных рецепторов в ПЭ и СтП.

Средний показатель ЭР- α /ЭР- β в железах ПЭ оказался значительно выше, чем в эндометрии СтП (1,4 и 1,2, $p=0,006$). Схожая закономерность прослеживалась и в отношении прогестероновых рецепторов: соотношение ПР-В/ПР-А в железах составило 1,2 и 1,1 ($p=0,04$), в строме 1,4 и 1,1 ($p<0,001$) соответственно.

Таким образом, ПЭ характеризуются превалированием экспрессии изоформ ЭР и ПР, опосредующих пролиферативный эффект над антипролиферативным, что косвенно свидетельствует в пользу гипотезы о гормонозависимой природе данного заболевания. Учитывая сведения о том, что чрезмерное воздействие эстрогенов приводит к активации, а воздействие прогестагенов - к подавлению Wnt-каскада, выявленный дисбаланс рецепторов к половым стероидам, может способствовать формированию ПЭ за счет усиления эстрогенной активности, индуцирующей Wnt-сигнальный путь (Leao R. et al., 2013; Wan Y., 2011).

С целью определения частоты и поиска возможных предикторов рецидивов ПЭ, в течение 12 месяцев после гистерорезектоскопии за пациентками проводилось динамическое наблюдение, основные этапы и результаты которого схематично отображены на рисунке 7. В связи с выявлением атипии 2 пациенткам была произведена экстирпация матки, вследствие чего они были исключены из дальнейшего исследования. 103 пациентки гормонотерапию не получали, 27 была введена ЛНГ-ВМС. Среди пациенток, не получавших гормонотерапию, частота рецидивов ПЭ через 12 месяцев составила 17,1%: в первые 6 месяцев – 2,1%, в последующие 6 – 15,0%.

На фоне ЛНГ-ВМС ни одного случая рецидива ПЭ отмечено не было. По данным УЗИ средний показатель М-ЭХО через 6 месяцев составил 0,41 см, через 12 месяцев – 0,34 см. Результаты ИГХ исследования показали, что после 12 месяцев локального воздействия ЛНГ-ВМС средний уровень экспрессии ЭР- α был в 3,4 раза ниже, ЭР- β – в 3,3 раза, ПР-А – в 11 раз и ПР-В – в 7 раз по сравнению с исходными значениями ($p<0,001$). Выраженная супрессия ЭР и ПР ассоциирована со снижением чувствительности эндометрия к гормональным воздействиям и, как следствие, с подавлением пролиферативной активности.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ЛНГ-ВМС может служить эффективным методом вторичной профилактики ПЭ.

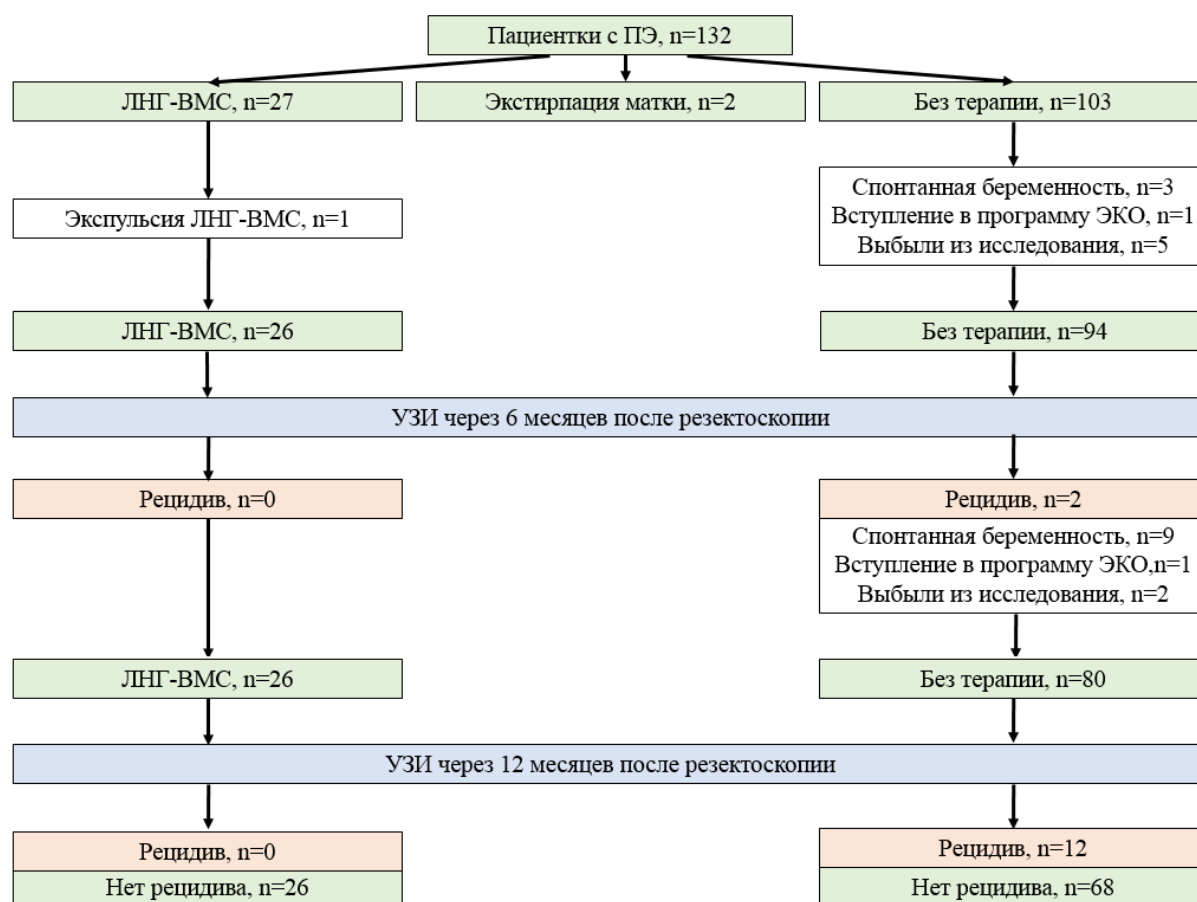


Рисунок 7. Результаты 12-месячного динамического наблюдения после полипэктомии.

Анализ клинико-anamнестических данных продемонстрировал, что единственным клинически значимым фактором, предрасполагающим к рецидиву ПЭ, является наличие ПЭ в анамнезе. Это повышает вероятность его повторного выявления в 1,5 раза; $OR=1,51 [1,14; 1,74]$, $p<0,001$. Установлено также, что исходно в группе с рецидивами в образцах ПЭ экспрессия CD105 была вдвое выше, чем в ПЭ без рецидивов, составила 40 (30;40) и 20 (10;25) соответственно ($p=0,02$). Поскольку CD105 экспрессируется в процессе пролиферации сосудистого эндотелия, эти результаты предположить, что патологически активный ангиогенез может лежать в основе рецидива ПЭ. Помимо этого, в группе с рецидивами исходно в 85,7% случаев в ПЭ было выявлено

метилирование гена WIF1, в то время как при отсутствии рецидива – этот показатель составил лишь 33,3%. Установлено, что наличие метилирования WIF1 повышает вероятность рецидивов ПЭ в 4,7 раз: ОР=4,67; 95% ДИ [1,24; 17,54]; $p < 0,001$. Можно полагать, что эпигенетическое выключение WIF1, как супрессора Wnt-пути, приводит к индукции данного каскада, усилению пролиферации и ангиогенеза, что повышает вероятность повторного возникновения ПЭ.

С использованием регрессионного анализа была разработана прогностическая модель вероятности наступления рецидива ПЭ в процентах:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}} * 100$$

где: p – вероятность наступления рецидива; e – основание натурального логарифма равно 2,718; z – регрессионная функция, имеющая вид:

$$z = -34,6 + 0,17 * [\text{экспрессия CD105}] + 30,89 * [\text{Наличие метилирования 0/1}]$$

Результаты кросс-проверки продемонстрировали, что чувствительность данной модели составляет 85,7%, специфичность 100%, точность метода 91,3%. Площадь под кривой $AUC = 0,97 \pm 0,04$, $p < 0,001$. Использование прогностической модели позволяет выделить группу пациенток, имеющих высокий риск рецидива ПЭ, которым для профилактики повторных внутриматочных вмешательств целесообразно введение ЛНГ-ВМС, поскольку локальное воздействие левоноргестрела оказывает выраженный ингибирующий эффект на рецепторы к половым стероидам и приводит к атрофии железистого эпителия.

ВЫВОДЫ

1. По данным ретроспективного анализа результатов 4059 гистологических исследований, частота выявления ПЭ удваивается от репродуктивного возраста к постменопаузе, и составляет 58% среди всех форм патологии эндометрия. Риск ПЭ возрастает при наличии эндометриоза (ОР=1,35) и ПЭ в анамнезе (ОР=1,43), при

этом существенно не зависит от коморбидных состояний, включая ожирение, артериальную гипертензию и СПКЯ.

2. Полипы эндометрия у 56,9% пациенток проявляются АМК, в каждом 2-ом случае в виде обильных менструальных кровотечений, в каждом 3-ем – в виде межменструальных кровотечений на фоне регулярного ритма менструации или олигоменореи при сочетании с ГЭ. По данным морфометрического анализа ПЭ, ассоциированные с АМК, имеют более выраженные структурные нарушения сосудистой ножки, характеризующиеся увеличением диаметра сосудов и истончением их стенки, что усугубляется при сопутствующем ХЭ, существенно повышающем риск АМК (ОР=2,39).

3. Полипы эндометрия характеризуются активацией ангиогенеза, о чем свидетельствует повышение экспрессии CD34 (в 4 раза), CD105 (в 2 раза) и VEGF-A (в 4,5 раза), последний коррелирует с увеличением диаметра ($R=0,49$; $p=0,01$) и толщиной стенки сосуда ($R=0,63$; $p<0,001$). Наличие сопутствующего ХЭ можно рассматривать, как дополнительный фактор повышения уровня VEGF-A и активности ангиогенеза.

4. В ПЭ выявлен дисбаланс рецепторов к половым стероидным гормонам, характеризующийся превалированием ЭР- α -зависимых эффектов за счет снижения экспрессии ЭР- β в железах (1,4 и 1,2; $p=0,006$) и доминированием ПР-В над ПР-А, как в железах (1,2 и 1,1; $p=0,04$), так и в строме (1,4 и 1,1; $p<0,001$), что способствует индукции клеточной пролиферации эндометрия и свидетельствует о гормонозависимой природе данного заболевания.

5. В ПЭ в 61,7% случаев выявлено аномальное метилирование гена WIF1, не характерное для эндометрия стадии пролиферации, свидетельствующее об активации Wnt-сигнального пути, связанного с повышением клеточной пролиферации и дифференцировки. Степень метилирования гена WIF1 положительно коррелирует с экспрессией ангиогенного фактора CD105, не зависит от гистологического типа ПЭ и состояния прилежащего эндометрия.

6. Частота рецидивов ПЭ за 12 месячный период наблюдения составила 17,1%. Установленная взаимосвязь между риском рецидивов ПЭ и такими показателями, как исходный статус метилирования гена WIF1 (OR=4,7) и величина экспрессии CD105 позволила создать прогностическую модель расчета вероятности рецидива ПЭ (площадь под ROC-кривой $0,97 \pm 0,04$; $p < 0,001$).

7. Локальное воздействие левоноргестрела, опосредованное выраженным подавлением экспрессии всех типов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, ингибированием пролиферации железистого компонента эндометрия и децидуализацией стромы, предотвращает возникновение рецидивов ПЭ независимо от возраста пациентки, морфометрической характеристики ПЭ, состояния прилежащего эндометрия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Наличие обильных менструальных или межменструальных кровотечений, возникающих на фоне регулярного ритма менструаций, характерно для ПЭ, тогда как их сочетание с олигоменореей патогномично для сопутствующей ГЭ.

2. УЗИ органов малого таза является информативным методом диагностики ПЭ диаметром 0,6-1,0 см (ПЦПР=75,4%) и, в особенности, ПЭ более 1,0 см (ПЦПР=90,5%). При ПЭ малого диаметра и отсутствии АМК, ввиду достаточно низкой чувствительности и специфичности метода, целесообразна динамическая оценка состояния эндометрия с целью снижения числа необоснованных внутриматочных вмешательств.

3. В течение 12 месяцев после полипэктомии у каждой 6-ой пациентки можно ожидать рецидив ПЭ. Для определения вероятности наступления рецидива заболевания целесообразно применять прогностическую модель, основанную на выявлении аномального метилирования гена WIF1 и определении уровня экспрессии CD105, которые являются значимыми предикторами рецидива ПЭ.

4. После удаления ПЭ у пациенток, не заинтересованных в реализации репродуктивной функции, независимо от возраста, морфометрической характеристики ПЭ и состояния прилежащего эндометрия эффективным методом вторичной профилактики является применение ЛНГ-ВМС.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Этиологическая структура и возможности диагностики аномального маточного кровотечения / Чернуха Г.Е., **Иванов И.А.**, Асатунова А.В., Эфендиева З.Н., Думановская М.Р. // Гинекология 2018 (2), 14-17.
2. Аномальные маточные кровотечения: ставим диагноз и выбираем лечение / Чернуха Г.Е., Ильина Л.М., **Иванов И.А.** // Гинекология. 2018 (4), 4-8.
3. Структура патологии эндометрия в различные возрастные периоды / Чернуха Г.Е., Асатунова А.В., **Иванов И.А.**, Думановская М.Р. // Акушерство и Гинекология 2018 (8), 129-134.
4. Роль метилирования генов-супрессоров WNT-сигнального пути в патогенезе гиперплазии эндометрия / Киселев В.И., Чернуха Г.Е., **Иванов И.А.**, Полозников А.А., Куземин А.А. // Материалы XIX Всероссийского научно-образовательного форума "Мать и Дитя - 2018" – М., 2018, 96-97.
5. Этиологическая структура патологии эндометрия, характерная для различных форм АМК / Асатунова А.В., **Иванов И.А.**, Эфендиева З.Н., Думановская М.Р. // Материалы XIX Всероссийского научно-образовательного форума "Мать и Дитя - 2018" – М., 2018, 68-69.
6. Клинико-морфометрические особенности полипов эндометрия и механизмы возникновения аномальных маточных кровотечений / Асатунова А.В., Чернуха Г.Е., **Иванов И.А.**, Куземин А.А. // Акушерство и гинекология. 2019 (7), 64-70.

7. Роль патологического неоангиогенеза в формировании полипов эндометрия и механизмы возникновения аномальных маточных кровотечений / Чернуха Г.Е., **Иванов И.А.**, Асатулова А.В., Мнихович М.В. // Клиническая и экспериментальная морфология. 2019 (2), 28-34
8. Морфометрическая характеристика полипов эндометрия / **Иванов И.А.** // Научная конференция с международным участием, посвященная 170-летию кафедры патологической анатомии им. академика А.И. Струкова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) – М., 2019, 28.
9. К вопросу о гормональной чувствительности полипов эндометрия и эффективности применения ЛНГ-ВМС в качестве метода вторичной профилактики / Чернуха Г.Е., **Иванов И.А.**, Асатулова А.В., Коршунов А.А. // Акушерство и гинекология. 2020 (6), 65-71.