

**ЯРЫГИНА**

**Надежда Константиновна**

**МАТОЧНЫЕ РУДИМЕНТЫ: ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И  
ТАКТИКА ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ**

**3.1.4. Акушерство и гинекология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

**Москва – 2021**

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

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Макиян Зограб Николаевич

доктор медицинских наук

Асатурова Александра Вячеславовна

Официальные оппоненты:

Зуев Владимир Михайлович - доктор медицинских наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, профессор кафедры;

Кира Евгений Фёдорович - доктор медицинских наук, профессор, кафедра женских болезней и репродуктивного здоровья ИУВ ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова, заведующий кафедрой.

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им А.И. Евдокимова» Минздрава России.

Защита состоится «02» ноября 2021 года в 13-00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.022.01 на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России

[http://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/YaryginaNK\\_diss.pdf](http://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/YaryginaNK_diss.pdf)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Врожденные аномалии формируются в критические периоды, когда наиболее интенсивен процесс закладки и развития органов (органогенез). Повреждение или остановка развития на определенных этапах эмбриогенеза может происходить вследствие влияния тератогенов. Прекращение дифференцировки влечет за собой персистирование эмбриональных структур, характерных именно для данного этапа развития органа (Курило Л.Ф., 2007; Асиен Р., 2006; Marc A Levitt, 2007).

Аплазия матки и влагалища (синдром Рокитанского-Кюстера-Майера) наблюдается в 1:4000-5000 новорожденных девочек, и является крайней степенью врожденного дисморфогенеза (недоразвития) органов репродуктивной системы. [EUROCAT. Surveillance of congenital anomalies in Europe. 2018]

Хирургическое лечение при аплазии матки и влагалища направлено на создание искусственного влагалища (кольпопоз), с целью восстановления сексуальной функции.

Однорогая матка представляет асимметричный вариант недоразвития матки, более часто встречается в популяции (примерно 1:1500-2000 новорожденных девочек). Хирургическая тактика неоднозначна, большинство авторов считают необходимостью удаление рудиментарного рога только при наличии функциональной активности или при болевом синдроме. [Адамян Л.В. 2018; Асиен, Р., Асиен, М., 2016]

При недоразвитии матки в большинстве случаев персистировать рудиментарные тяжи (валики) или маточные рудименты. Клинико-анатомические варианты маточных рудиментов малоизучены. Наибольшее число диагностических ошибок, необоснованных хирургических вмешательств, а также

осложнений выявлено именно у этих пациенток. [Демидов, В.Н., 2015; Адамян Л.В., 2017]

Рудимент – (от лат. rudimentum «зачаток, первооснова») – это орган, который закладывается во время эмбрионального развития, но полностью не развивается. Рудиментарные органы сохраняются в течение всей жизни организма, однако функция рудиментарных органов и влияние на здоровье не изучены. [Гистология, эмбриология, цитология: учебник. под ред. Ю. И. Афанасьева, Н. А. Юриной].

Изучению генетических факторов и отягощенной наследственности посвящены единичные работы; неизвестна роль сочетанной дисгенезии яичников (гонад) при аномалиях матки. Влияние наследственных факторов в формировании пороков развития женской репродуктивной системы составляет от 10 до 25%. В настоящее время более чем, в 65% случаев вероятные тератогенные факторы остаются невыясненными. Отечественный эмбриолог, профессор Светлов П.Г. экспериментально изучил влияние тератогенов на развитие эмбрионов в критические периоды развития. (П. Г. Светлов, Л.С. Персианинов, Н. Л. Гармашева: «Аntenатальная профилактика заболеваемости плода и перинатальной смертности» 1968г).

По данным Адамян Л.В., Макиян З.Н., Боровая Т.Г. (2007) ткань маточных рудиментов при наличии глубоких дисморфогенетических изменений не является абсолютно инертной, так как содержит элементы дефинитивного миометрия и эндометрия. Присутствие миоцитов секреторного типа, характерных для эмбрионального миогистогенеза, указывает о наличии некоторого пролиферативного потенциала в маточных рудиментах.

Представляет интерес изучение морфологических особенностей тканей маточных рудиментов при аплазии матки и влагалища; характеристик пролиферативного потенциала клеток миометрия и эндометрия; белковых факторов, регулирующих процессы клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза; а также рецепторов к половым гормонам (эстрогену и прогестерону).

Определение маркеров полипотентных клеток (germ cells) в тканях эутопического эндометрия в маточных рудиментах, вероятно, позволит изучить источники происхождения эктопических клеток эндометриоза.

Возможность восстановления репродуктивной функции у пациенток с аплазией матки и влагалища с использованием вспомогательных методов репродукции, представляет важную задачу и в настоящее время малоизучено. Малоизучено состояние овариального резерва, а также возможности донации ооцитов у пациенток с аплазией матки и влагалища в программе суррогатного материнства.

#### Степень разработанности темы исследования

В настоящее время разработаны эффективные методы хирургической коррекции аплазии матки и влагалища с использованием эндоскопических методов (Адамян Л.В., и соавт. 2019), направленных на создание искусственного влагалища для реализации сексуальной функции. Тактика хирургического лечения в отношении маточных рудиментов неоднозначна.

Известны единичные сообщения о наличии эндометриоза и миомы матки у пациенток с аплазией матки и влагалища, что свидетельствует о том, что ткани маточных рудиментов не являются инертными и имеют определенный пролиферативный потенциал.

#### Цель исследования:

Изучить пролиферативный потенциал маточных рудиментов при аплазии матки и влагалища для оптимизации хирургического лечения.

#### Задачи исследования:

1. Определить клиническую характеристику больных с аплазией матки и влагалища, включая: кариотип, фенотипические особенности, сочетанные аномалии других органов и систем.
2. Изучить анатомические варианты аплазии матки и влагалища по данным инструментальных методов обследования: 2D и 3D УЗИ органов малого таза, лапароскопии, морфологического исследования маточных рудиментов.
3. Провести гистологическое исследование маточных рудиментов, изучить архитектуру тканей, морфотип миоцитов и наличие эндометриальных желез. Провести морфометрию сосудов (определение площади, диаметра просвета сосудов, индекса Керногана) в миометрии маточных рудиментов.
4. Оценить параметры экспрессии в биоптатах маточных рудиментов рецепторов к половым гормонам - эстрогеновых рецепторов (ER-alpha, ER-beta), прогестероновых рецепторов (PgR-A, PgR-B); а также сосудисто - эндотелиального фактора VEGF.
5. Определить экспрессию и распределение маркеров стволовых и пролиферирующих клеток и факторов роста в тканях рудиментов: OCT-4, Ki67, CD117, LHX9, LGR5.
6. Оптимизировать методы хирургического лечения пациенток с наличием функционирующих маточных рудиментов, в сочетании с гинекологической патологией (эндометриозом и миомой).

#### Научная новизна

Изучена роль наследственных и врожденных факторов в этиологии развития аномалий матки и влагалища.

Изучены этиопатогенетические механизмы недоразвития женской репродуктивной системы.

Изучены клиничко-анатомические особенности маточных рудиментов.

Оценен пролиферативный потенциал тканей маточных рудиментов и потенциал их использования для возможного воссоздания полноценных органов методами регенеративной медицины.

Оптимизирована тактика хирургического лечения пациенток с аплазией матки и влагалища при наличии маточных рудиментов в сочетании с миомой и эндометриозом.

Изучена морфология гонад у пациенток с аплазией матки и влагалища для оптимизации результатов ВРТ при донации ооцитов.

### Практическая значимость

Оптимизирован алгоритм диагностики и комплексного лечения пациенток с аплазией матки и влагалища, а также при однорогой матке.

Разработаны методы раннего выявления врожденных аномалий матки и влагалища с использованием 2D и 3D УЗИ.

Оптимизированы методы хирургического лечения пациенток с аплазией матки и влагалища.

Оценены перспективы использования тканей маточных рудиментов для хирургического восстановления нормальных внутренних половых органов с использованием технологий регенеративной медицины.

Оптимизирована тактика ведения пациенток с аплазией матки и влагалища, а также восстановления репродуктивной функции в программе суррогатного материнства.

### Методология и методы исследования

Проведено обследование и оперативное лечение 63 пациенток с аплазией матки и влагалища, в отделении оперативной гинекологии ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава РФ.

У 37 пациенток проведено цитогенетическое и молекулярно-генетическое исследование методом флуоресцентной *in situ* гибридизацией (FISH) для определения мозаицизма X хромосомы.

У 33 пациенток с аплазией матки и влагалища удалены маточные рудименты (13 – нефункционирующих и 20 – функционирующих маточных рудиментов). Проведено гистологическое исследование удаленных маточных рудиментов; морфометрия сосудов и иммуногистохимическое исследование. У 32 пациенток с однорогой маткой произведено удаление рудиментарного рога.

### Положения, выносимые на защиту

1. Диагностику анатомо-морфологических вариантов и функциональной активности маточных рудиментов целесообразно проводить с помощью ультразвукового исследования (МРТ при необходимости), для выявления эндометриальной полости, определения активности перфузионного кровотока. Верификация диагноза производится во время лапароскопии (и гистероскопии при однорогой матке), с последующим патоморфологическим исследованием.
2. Гистохимические и иммунофлуоресцентные исследования специфических маркеров в тканях рудиментов показали: глубокие дистрофические изменения миоцитов обусловлены нарушением эстроген-зависимой пролиферации миоцитов именно за счет снижения экспрессии рецепторов ER-alpha, при относительно выраженной экспрессии ER-beta и рецепторов прогестерона PgR-A и PgR-B. В клетках рудиментов определяется экспрессия маркеров пролиферирующих и стволовых, в том числе плюрипотентных, клеток и маркера васкулогенеза, что свидетельствует о наличии пролиферативного потенциала маточных рудиментов.
3. Новообразование миомы маточных рудиментов у 8 пациенток (13%); эндометриоидные гетеротопии у 17 пациенток (26%), в том числе при полной аплазии матки и отсутствии эутопического эндометрия, проявление функциональной активности у 12 пациенток (19%) - подтверждает наличие пролиферативного потенциала клеток маточных рудиментов.



4. При проведении оперативного лечения целесообразно расширение показаний для удаления маточных рудиментов - при выявлении признаков функциональной активности, наличии болевого синдрома или сопутствующей патологии (миомы или эндометриоза).

#### Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в определении темы научной работы, формировании ее дизайна, методологической структуры, формулировке цели и задач. Осуществлял обследование пациенток, принимал участие в оперативном лечении и ведении больных. Выполнял сбор биологического материала для гистологического и иммуногистохимического исследований, морфометрии сосудов. Обобщал и анализировал полученные данные, проводил их статистическую обработку и интерпретацию.

#### Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4 и 5 паспорта специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология.

#### Степень достоверности полученных результатов

Степень достоверности полученных результатов достигнута за счет математической обработки материала параметрическими и непараметрическими методами. Для оценки межгрупповых различий применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона и отношение шансов с доверительным интервалом 95%. Различия между статистическими величинами считались достоверными при  $p < 0,05$ .

#### Апробация работы

Основные результаты исследования представлены на Международной научно-практической конференции «Инновационные исследования в области биомедицины» (Москва, 2019), XIV Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2020), 13<sup>th</sup> Congress of the European Society of Gynecology (Vienna, Austria, 2019), XXXII Международном конгрессе с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2019, 2020), на заседании «Journal club» на базе «НМИЦ АГП им В.И.Кулакова».

Диссертационная работа обсуждена на межклинической конференции гинекологического отделения (17.04.2020 г.) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (17.08.2020 г.)

#### Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены и используются в практической работе гинекологического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. По теме диссертационной работы опубликовано 7 печатных работ, из них 4 – в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК.

Получено 2 патента на изобретение, зарегистрированные в ФИПС - Метод 3D ультразвукового сканирования матки для дифференциации внутриматочной перегородки седловидной формы и определения сосудистого кровотока с целью оперативного лечения // RU2707865; Способ оценки состояния перфузионного кровотока маточных рудиментов с помощью цветового доплеровского картирования // RU2746663.

#### Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа представлена на 157 страницах

машинописного текста, иллюстрирована 31 рисунками, 17 таблицами и 7 диаграммами. Библиографический указатель включает 76 работ на русском языке и 101 работу на английском языке.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Диссертационная работа проведена на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – академик РАН Г.Т. Сухих).

С 2016 г. по 2020 г. в отделении оперативной гинекологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (руководитель отделения – академик РАН, д.м.н., профессор Л.В. Адамян) оперировано 95 пациенток с аномалиями матки и влагалища в возрасте от 18 до 45 лет.

Гистологическое исследование маточных рудиментов и рудиментарного рога проведено в патологоанатомическом отделении на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (руководитель отделения – д.м.н., Асатурова А.В.).

Научное исследование одобрено комитетом по этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 13) от 26 ноября 2018 г.

Критерии включения: подтвержденный диагноз аплазии матки и влагалища; репродуктивный возраст пациенток – от 18 до 45 лет; пациентки с однорогой маткой и наличием рудиментарного рога; пациентки с аноректальными и экстрафическими пороками; подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: пациенты со злокачественными новообразованиями половых органов; острые воспалительные заболевания органов малого таза;

пациентки с аноректальными и экстрофическими пороками; пациентки с наличием анатомически нормальной функционирующей матки.

Первый этап работы включал оценку клинико-anamнестических, лабораторных данных, кариотипирование, проведение и оценку специальных методов исследования (УЗИ, МРТ).

На втором этапе 95 пациенткам в соответствии с формой аномалии матки и сопутствующей гинекологической патологией проведено хирургическое лечение.

На третьем этапе проводили гистологическое, иммуногистохимическое, иммуноцитохимическое исследования биоптатов маточных рудиментов и рудиментарного рога; морфометрию сосудов: площадь, диаметр просвета сосуда, толщину стенки сосуда, индекс Керногана.

Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, подвергали обработке с помощью аппарата гистологической проводки тканей фирмы «Pool of Scientific Instruments» (Швейцария) и заливали в парафин. Суммарная продолжительность фиксации материала, проводки и заливки в парафин не превышала 24 часов. Для морфологического исследования с каждого блока получали около 10 ступенчатых срезов. Для гистологического исследования депарафинированные срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Морфометрический анализ препаратов проводили с помощью системы анализа изображения на базе микроскопа Axio Imager A2 с использованием программы AxioVision фирмы Zeiss (Германия) при увеличении до 1200 раз. Определяли площадь, диаметр просвета сосуда, толщину стенки сосуда, а также индекс Керногана, который отражает пропускную способность сосудов и определяется отношением толщины сосудистой стенки к диаметру просвета сосуда, умноженным на сто.

Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и пакета статистических программ Statistica V10 (США).

Для оценки межгрупповых качественных различий значений признаков применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона и отношение шансов с доверительным

интервалом 95%. Различия между статистическими величинами считались достоверным при  $p < 0,05$ . Для уменьшения ошибки выборки были использованы строгие критерии отбора пациентов.

### Результаты собственных исследований и их обсуждение

Оперировано 95 пациенток в возрасте от 18 до 45 лет, из них: 65 с аплазией матки и влагалища; 32 с однорогой маткой и наличием рудиментарного рога.

**Таблица 1. Варианты аномалий матки, в сочетании с эндометриозом и миомой.**

Вид аномалии	Количество пациенток	Эндометриоз	Миома
Аплазия матки и влагалища	63	17	8
Однорогая матка	32	11	2
Всего	95	28	10

При аплазии матки и влагалища – произведено оперативное лечение: создание искусственного влагалища из тазовой брюшины у 56 пациенток, по методике разработанной академиком Л.В.Адамян. Единовременно удаление маточных рудиментов произведено у 26 пациенток (13 – нефункционирующих, 13 - функционирующих маточных рудиментов). У 7 пациенток кольпоэлонгация по Шерстневу, а также удаление функционирующих маточных рудиментов.

У всех (32) пациенток с однорогой маткой удален рудиментарный рог.

Макроскопически парные маточные рудименты у всех 63 пациенток с аплазией матки и влагалища представлены мышечными валиками овальной формы или тяжами, расположенными в малом тазу в латеральных областях, мезоперитонеально, в области пересечения круглых связок с маточными трубами и собственными связками яичников.

Выявлены следующие анатомо-морфологические варианты:

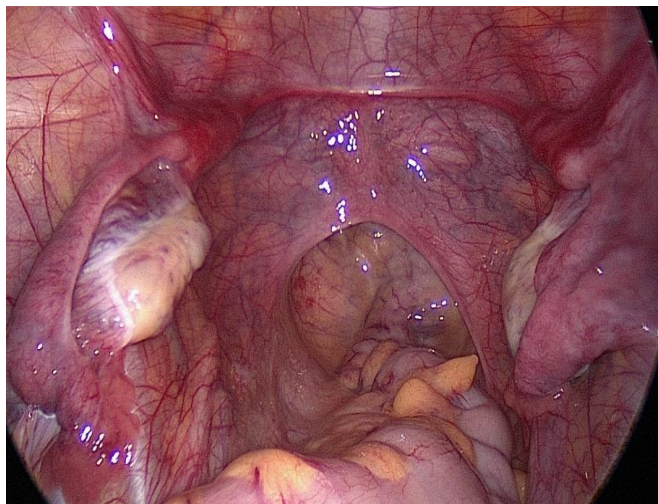
- Маточные рудименты без признаков функциональной активности и отсутствии эндометриальной полости, представлены мышечными тяжами удлиненной формы, толщиной около 12-15 мм - выявлены у 50 больных.
- Маточные рудименты в 13 случаях представлены овальными мышечными валиками продолговатой формы, длиной около 3.5-4.0см, толщиной 2.5-3.0 см, с замкнутой эндометриальной полостью диаметром около 6-8 мм, в 6 случаях полость расширена до 10-15мм за счет гематометры.

У 13 пациенток удалены нефункционирующие маточные рудименты при операции создания искусственного влагалища из тазовой брюшины. Показания для удаления нефункционирующих маточных рудиментов: болевой синдром (7), наличие эндометриоидных гетеротопий (6 пациенток).

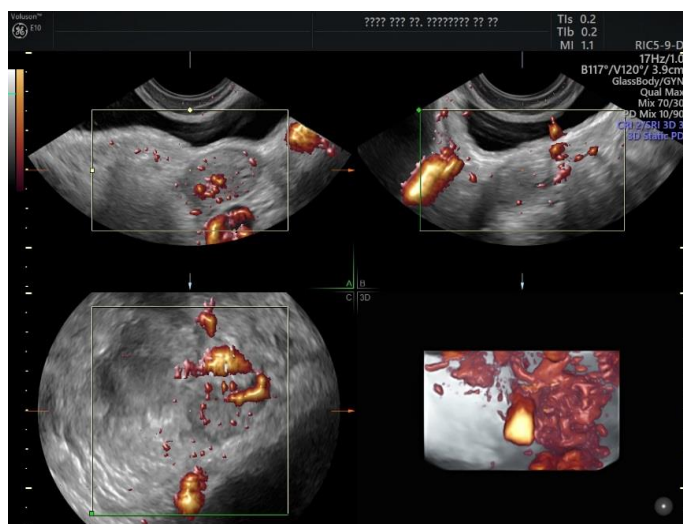
При молекулярно-генетическом исследовании методом FISH: у большинства пациенток 27 (73%) определен нормальный женский кариотип (46, XX); моносомия X хромосомы (45,X/46,XX) выявлена у 10 (27%) пациенток (мозаицизм от 5 до 20%); делеция короткого плеча X-хромосомы (delXp) выявлена у 2 больных.

У пациенток с мозаицизмом X хромосомы выявлена корреляция между степенью мозаицизма и снижением овариального резерва: при низкопроцентном мозаицизме (5%) яичники без видимой патологии, овариальный резерв в норме; при более высокой степени мозаицизма (от 12 до 20%) – выявлены признаки дисгенезии гонад - яичники уменьшены в размерах, фолликулярный аппарат снижен (рис. 1).

Для оценки функциональной активности маточных рудиментов, проведено УЗИ, ультразвуковое доплеровское сканирование (рис. 2), нами получен патент RU 2746663. Признаки усиленного кровотока маточных рудиментов у 6 пациенток, с помощью ультразвуковой доплерометрии.



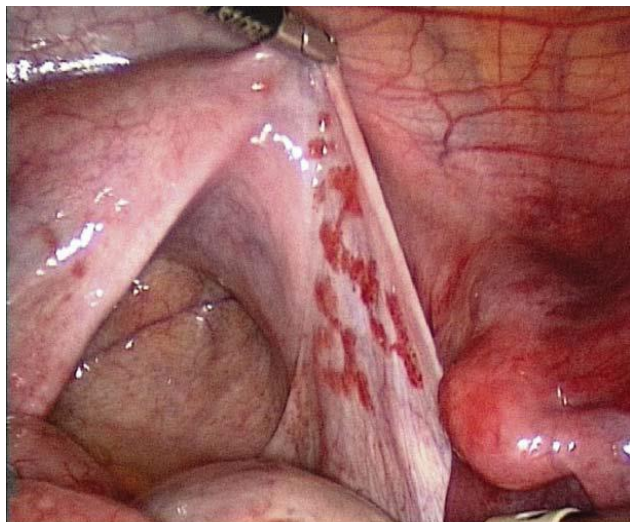
**Рис. 1.** Дисгенезия яичников и моносомия X хромосомы (45,X/46,XX) 12%. Аплазия матки и влагалища, нефункционирующие рудименты.



**Рис. 2.** Ультразвуковое доплеровское сканирование. Маточные рудименты с наличием активного сосудистого кровотока.

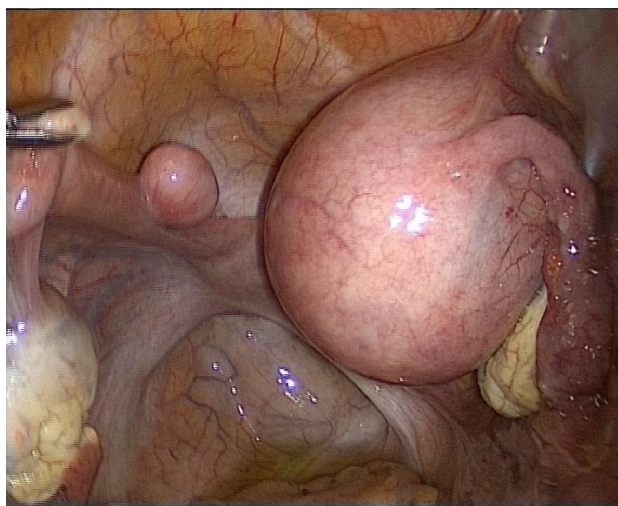
Сопутствующая гинекологическая патология при аплазии матки и влагалища в 25 (39,7%) случаев: эндометриоидные (экстрагенитальные) гетеротопии различной локализации выявлены у 5 пациенток, при наличии нефункционирующих маточных рудиментов (рис. 3), и у 12 пациенток с наличием функционирующих маточных рудиментов. При гистологическом исследовании маточных рудиментов в 23 (36,5%) случаев выявлен внутренний эндометриоз, в том числе при отсутствии эутопической эндометриальной полости.





**Рис. 3.** Пациентка А-ва 20 лет, аплазия матки и влагалища, маточные рудименты нефункционирующие, в виде тяжей. При лапароскопии выявлены обширные эндометриоидные гетеротопии на брюшине позади-маточного пространства.

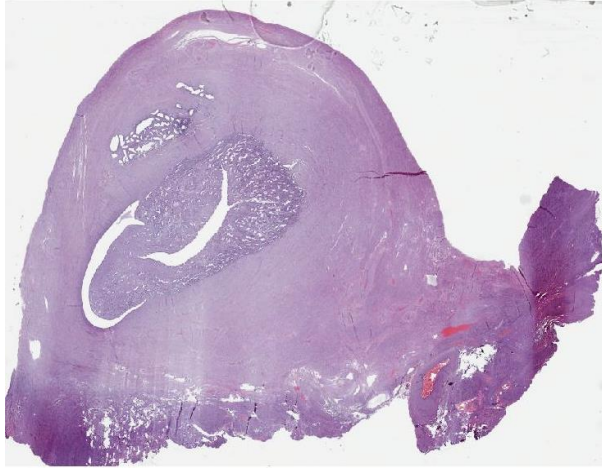
Множественная миома маточных рудиментов выявлена у 8 (13%) пациенток с нефункционирующими маточными рудиментами, в том числе у 3 пациенток – миома, исходящая из нефункционирующих маточных рудиментов гигантских размеров, и 2 пациентки оперированы повторно вследствие рецидива миомы матки (рис. 4).



**Рис. 4.** Аплазия матки и влагалища, маточные рудименты нефункционирующие. Множественная миома матки больших размеров, исходящая из обоих рудиментов.

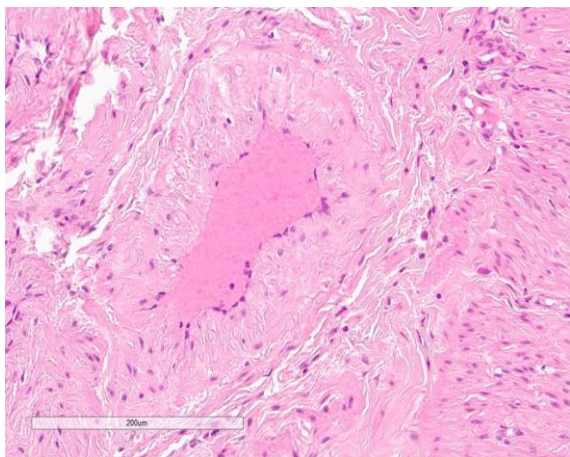
При гистологическом исследовании функционирующих рудиментов (рис. 5), миоциты расположены циркулярно вокруг замкнутой эндометриальной

полости, которая выстлана функционирующим эндометрием, сообщается лишь с просветом устья маточной трубы. В предполагаемом локусе формирования цервикального канала (в области зачатка влагалища) просвет отсутствует, обнаружены локусы вагинального эпителия со скоплениями слизи.



**Рис. 5.** Гистологическое исследование функционирующего рудимента:

Морфометрия сосудов в маточных рудиментах (рис. 6), взятых при их удалении у пациенток с аплазией матки и влагалища и с однорогой маткой, имеющей рудиментарный рог, проводилась на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином.



**Рис. 6.** Биоптат маточного рудимента пациентки 3. 26 лет, окраска гематоксилин/эозин, х100.

При морфометрии, сосуды расположены хаотично в виде деформированных пучков. В биоптатах маточных рудиментов и рудиментарного рога в поле зрения в среднем выявлено  $15,4 \pm 9,67$  сосудов, общая площадь просвета сосудов или степень васкуляризации составила  $98,1 \pm 32,4 \text{ мкм}^2 \times 10^3$ , средний диаметр сосуда

составил  $60,2 \pm 35,7$  мкм, средняя толщина стенки сосудов –  $10,9 \pm 6,8$ , индекс Керногана составил  $38,3 \pm 14,7$ .

Полученные данные о диаметре сосудов и общей площади просвета сосудов свидетельствуют о том, что в препаратах нефункционирующих маточных рудиментов эти показатели в 7 раз меньше, в препаратах функционирующих маточных рудиментов в 5 раз меньше, в препаратах однорогой матки с рудиментарным рогом в 3 раза меньше, чем в миометрии здоровых женщин репродуктивного возраста, которые были исследованы И.В. Саньковой (1999), с учетом того, что в поле зрения наблюдали идентичное количество сосудов. Полученное нами значение индекса Керногана отражает сниженную пропускную способность сосудов в области маточных рудиментов (как функционирующих, так и нефункционирующих), а также в рудиментарном роге в связи с утолщением стенки сосудов за счет муфт из гладкомышечных клеток и перицитов и сужением их просветов, по сравнению с данными других авторов (А.А. Гудкин, 2004; И.В. Санькова, 2011). Стенки сосудов резко утолщены за счет пролиферации эндотелия, склероза и гиалиноза гладкомышечных клеток, что соответствует морфологической картине сосудистых мальформаций или аномалий развития сосудов (Е.И. Филиппенкова, 2016; В.В. Lee, 2007; Л.А. Бокерия, 2015).

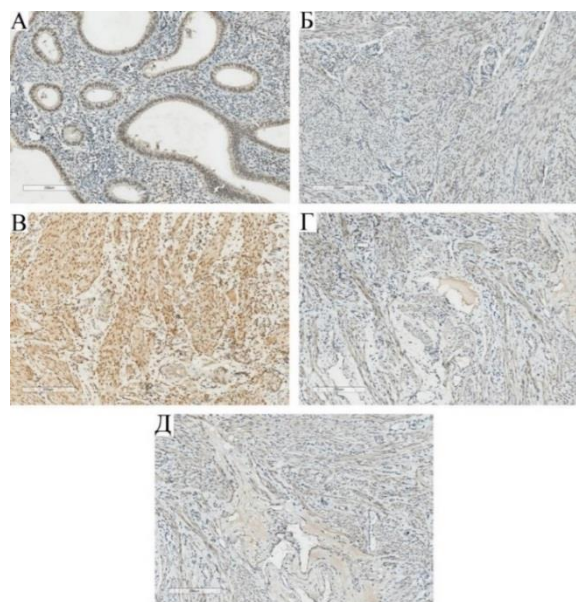
Проведенный гистологический анализ микропрепаратов маточных рудиментов выявил наличие глубоких дисморфогенетических изменений миометрия; присутствие клеток эмбрионального миогистогенеза, а также элементов эутопического эндометрия в толще нефункционирующих маточных рудиментов.

## Иммуногистохимическое исследование

Иммуногистохимическим методом были оценены репрезентативные образцы мышечной ткани и эндометрия функционирующих маточных рудиментов, нефункционирующих маточных рудиментов и рудиментарного рога при однорогой матке.

### **Экспрессия ER-alpha**

Выраженная ядерная экспрессия ER-alpha отмечалась в эпителии желез эндометрия (250-290 баллов), умеренная - в строме эндометрия (170-200 баллов) функционирующего маточного рудимента, в миоцитах мышечного слоя функционирующего маточного рудимента экспрессия ER-alpha составила (150-210 баллов), в миоцитах нефункционирующего маточного рудимента экспрессия ER-alpha была разнородной: в 35% таких рудиментов она была выраженной (270-300 баллов), в 65% - была слабой или умеренной (90-130 баллов), в миоцитах рудиментарного рога при однорогой матке экспрессия ER-alpha была умеренной (130-160 баллов).

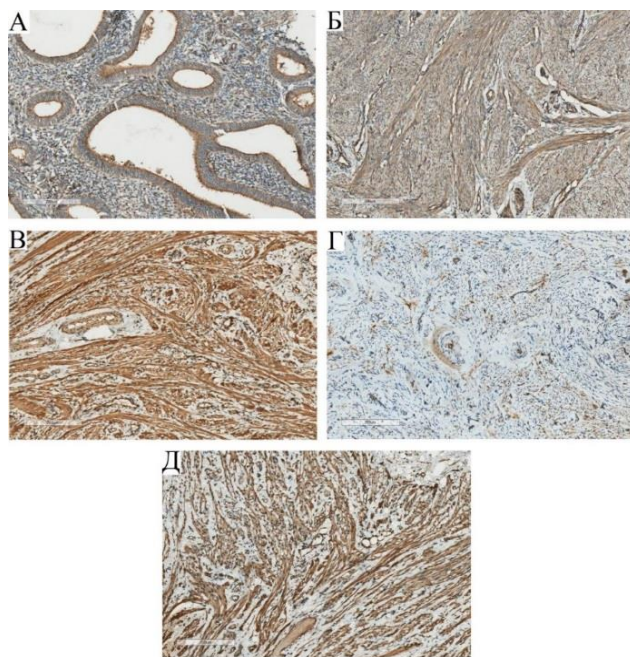


**Рис. 7.** Экспрессия ER-alpha в маточных рудиментах и рудиментарном роге при однорогой матке. А. Экспрессия ER-alpha в эндометрии функционирующего рога, Б. Экспрессия ER-alpha в миометрии функционирующего маточного рудимента,

В, Г Экспрессия ER-alpha в нефункционирующих маточных рудиментах, Д. Экспрессия ER-alpha в рудиментарном роге при однорогой матке, х 100.

### Экспрессия ER-beta

Выраженная апикальная экспрессия ER-beta отмечалась в эпителии желез эндометрия (190-300 балла), умеренная - в строме эндометрия (90-140 баллов) функционирующего маточного рудимента, в миоцитах мышечного слоя функционирующих маточных рудиментов экспрессия ER-beta была выраженной (преимущественно – 200-280 баллов). В миоцитах нефункционирующих маточных рудиментов экспрессия ER-beta была разнородной: в 30% таких рудиментов она была выраженной (260-280 баллов), в 70% - практически отсутствовала. В миоцитах рудиментарного рога при однорогой матке экспрессия ER-beta была выраженной (210-270 баллов).



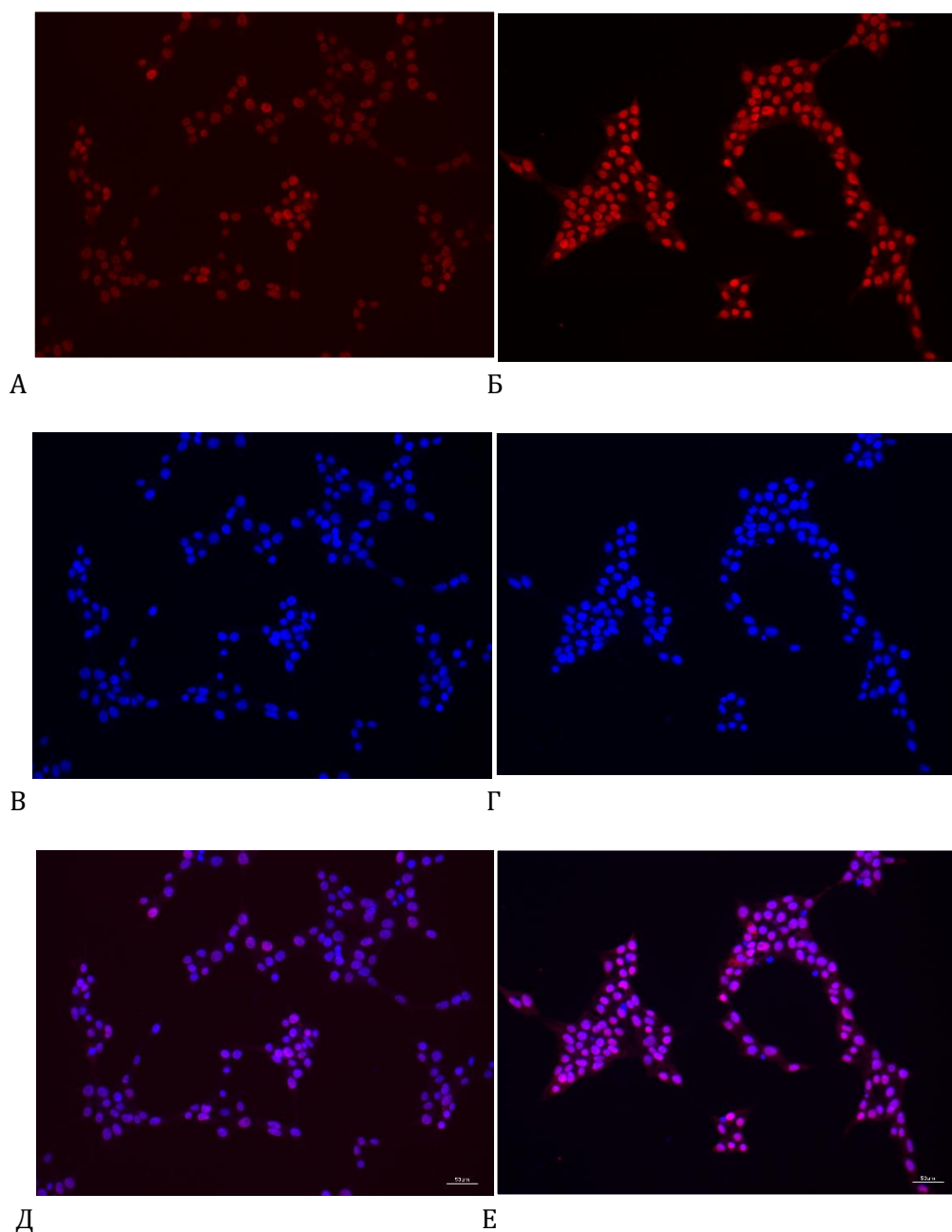
**Рис. 8.** Экспрессия ER-beta в маточных рудиментах и рудиментарном роге при однорогой матке. А. Экспрессия ER-beta в эндометрии функционирующего маточного рудимента, Б. ER-beta в миометрии функционирующего маточного рудимента, В, Г Экспрессия ER-beta в нефункционирующих маточных рудиментах, Д. Экспрессия ER-beta в рудиментарном роге при однорогой матке, х 100.

Экспрессию маркеров прогениторных клеток CD 117, LGR5, LHX9, Ki67 и Oct4 нельзя назвать однородной для всех типов нарушения формирования матки. Однако следует отметить, что если экспрессия LHX9 не была отмечена в нефункционирующих маточных рудиментах, а в функционирующих маточных рудиментах слабо выражена, как в эндометрии, так и в миоцитах, то в отношении CD117 и LGR5 наблюдались пациентки, у которых отмечалась положительная экспрессия данных маркеров в мышечных и/или эндометриальных клетках. В то же время, экспрессия этих маркеров не была синергичной. Если в отношении CD 117 была позитивной только часть нефункционирующих маточных рудиментов, а остальные наблюдения были отрицательными, то экспрессия LGR 5, напротив, чаще была положительной, чем отрицательной и низкий уровень экспрессии данного маркера отмечался только в части нефункционирующих маточных рудиментов и однорогих матках.

Также неоднородной можно назвать экспрессию таких маркеров как VEGF, ER-alpha и ER-beta, особенно в отношении нефункционирующих маточных рудиментов. При анализе экспрессии нефункционирующих маточных рудиментов было выявлено, что одни из них демонстрируют более высокую (выраженную), а другие – более низкую экспрессию данных маркеров. При этом следует отметить, что практически все наблюдения различной экспрессии маркеров в двух типах маточных рудиментов имели корреляционную зависимость: нефункционирующие рудименты с более высокой экспрессией CD 177 и более высокой экспрессией LGR5 имели более высокие показатели экспрессии ER-alpha и ER-beta и более высокую экспрессию VEGF, что может характеризовать их более высокую «потенцию» к росту из-за более высокого содержания прогениторных клеток, потенциала к ответу на стимулирующее влияние эстрогенов и большие возможности кровоснабжения гладкомышечной ткани в связи с повышенной экспрессией VEGF. В нашем исследовании маркер Oct4 был выявлен в небольшом количестве в клетках эндометриальных желёз и скоплениях эндометриальных клеток как в ядре, так и в цитоплазме. Это может указывать на то, что эти клетки находятся на раннем этапе перепрограммирования из

эндометриальных клеток в какой-то другой тип клеток или же в клетки эндометрия из, например, миобластов. Экспрессирующие Oct4 клетки в тканях маточных рудиментов были выявлены впервые.

**Иммуноцитохимическое определение экспрессии Nanog клетками, выделенными из маточных рудиментов.**



**Рис. 9.** Экспрессия Nanog клетками, изолированными из функционирующего маточного рудимента пациентки с аплазией матки и влагалища. Левые панели:

экспрессия Nanog клетками функционирующего маточного рудимента. А – Nanog; В – ядерный краситель DAPI; Д – наложение А и В. Правые панели: экспрессия Nanog индуцированными плюрипотентными клетками (положительный контроль). Б – Nanog; Г – ядерный краситель DAPI; Е – наложение Б и Г. x100.

В сочетании с данными по иммуногистохимическому исследованию экспрессии Oct-4, данные по экспрессии Nanog говорят о том, что часть клеток по крайней мере некоторых рудиментов экспрессируют эмбриональные маркеры, характерные для недифференцированных стволовых клеток, находящихся на ранней стадии развития. Мы выявили такие клетки только в функционирующих рудиментах, что позволяет высказать другую гипотезу, заключающуюся в том, что все или часть экспрессирующих эмбриональные мастер транскрипционные факторы клеток являются плюрипотентными. Экспрессия маркеров стволовых клеток в маточных рудиментах, позволяет различить: потенциально «молчащие» и потенциально «растущие» миоциты маточных рудиментов. Присутствие клеток со свойствами стволовости (плюрипотентности) могут претерпевать клональную экспансию (размножение) и обеспечивать рост маточных рудиментов. Клональная экспансия стволовых клеток может лежать в основе таких патологий как миома и эктопический эндометриоз.

Таким образом, ткань маточных рудиментов при аплазии матки и влагалища изменена, но не является абсолютно инертной, поскольку содержит клетки, экспрессирующие рецепторы эстрогенов и прогестерона, клетки, экспрессирующие VEGF, элементы дефинитивного миометрия, относительно малодифференцированные клетки-предшественники, в том числе камбиальные клетки эндометрия и, возможно, клетки в состоянии трансдифференцировки. На наличие некоторого пролиферативного потенциала указывает и присутствие миоцитов, характерных для эмбрионального миогистогенеза. Это подтверждается клиническими случаями роста и проявления функциональной активности маточных рудиментов, развитием миом маточных рудиментов при её полном недоразвитии, а также наличия эндометриоидных гетеротопий при отсутствии эутопического (нормального) эндометрия.



Нами разработан алгоритм обследования и оперативного лечения пациенток с наличием маточных рудиментов, определяющий этапность диагностики и тактику оперативного лечения, с целью оптимизации результатов хирургического лечения и восстановления репродуктивной функции (Приложение 1).

## Приложение 1

Алгоритм лечебно-диагностического процесса у больных с маточными рудиментами.



## ВЫВОДЫ

1. Аплазия матки и влагалища в 27% случаев (17 пациенток) сочетается: с моносомией X-хромосомы (мозаицизм 45,X/46,XX), в сочетании с дисгенезией яичников и снижением овариального резерва; что указывает на целесообразность проведения донации и крио-консервации ооцитов (или эмбрионов) в программе суррогатного материнства.
2. Критериями функциональной активности маточных рудиментов являются: жалобы пациенток на боли в области живота; увеличение размеров рудиментов и наличие эндометриальной полости по данным УЗИ, МРТ; активное кровообращение по результатам доплерографии. Верификация диагноза производится во время лапароскопии (и гистероскопии при однорогой матке), с последующим патоморфологическим исследованием.
3. Целесообразно расширение показаний для превентивного удаления маточных рудиментов при проведении оперативного лечения создания искусственного влагалища, при выявлении признаков функциональной активности, наличии болевого синдрома или сопутствующей патологии (миомы или эндометриоза).
4. Гистологическое исследование показало: маточные рудименты представлены дефинитивной (зрелой) гладко-мышечной тканью (миоцитами), с признаками глубокой дистрофии и нарушения архитектоники тканей. Скопления эндометриальных клеток обнаружены даже в маточных рудиментах без признаков функциональной активности; в функционирующих маточных рудиментах имеются зачатки вагинального эпителия.
5. При морфометрии сосудов выявлено выраженное снижение площади просвета и неравномерное распределение сосудов в маточных рудиментах более чем в 7 раз, а в рудиментарном роге при однорогой матке в 3 раза - по сравнению с нормой, это свидетельствует о нарушении перфузии ткани миометрия рудиментов, что является одной из причин недоразвития матки.
6. Гистохимические и иммунофлюоресцентные исследования специфических маркеров в тканях рудиментов показали: глубокие дистрофические изменения миоцитов обусловлены нарушением эстроген-зависимой пролиферации

миоцитов именно за счет снижения экспрессии рецепторов  $Erg\alpha$ ), при относительно выраженной экспрессии  $Erg\beta$  и рецепторов прогестерона Pgr-A.

7. В миоцитах определяется экспрессия стволовых (плюрипотентных) клеток OCT-4, Nanog, CD 117, LHX9, Ki 67, что свидетельствует о наличии пролиферативного потенциала маточных рудиментов. Наблюдения различной экспрессии маркеров в двух типах нефункционирующих рудиментарных рогов имели корреляционную зависимость: нефункционирующие рудименты с более высокой экспрессией CD 177 и более высокой экспрессией LGR5 имели более высокие показатели экспрессии ER-alpha и ER-beta и более высокую экспрессию VEGF, что может характеризовать их более высокую «потенцию» к росту из-за более высокого содержания прогениторных клеток, потенциала к ответу на стимулирующее влияние эстрогенов.
8. Наличие пролиферативного потенциала в маточных рудиментах подтверждается клиническими данными - проявлением функциональной активности (в 19% (12) случаев), образованием миомы матки (у 13% (8) пациенток) и наличием эндометриоидных гетеротопий (у 26% (17) пациенток), в том числе при полной аплазии матки и отсутствии эутопического эндометрия.
9. Разработанный алгоритм, определяющий этапность диагностики и оперативного лечения позволяет оптимизировать тактику хирургического лечения и восстановления репродуктивной функции.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При выявлении аплазии матки и влагалища необходимо проводить молекулярно-генетическое обследование методом FISH-анализа на предмет моносомии X хромосомы во всех случаях, особенно перед оперативным лечением; поскольку является более информативным по сравнению с цитогенетическим исследованием кариотипа.
2. Учитывая наличие дисгенезии яичников и снижение овариального резерва у 27% (17) пациенток с мозаицизмом X хромосомы (45,X/46,XX), целесообразно

проведения донации и крио-консервации ооцитов (или эмбрионов) в программе суррогатного материнства.

3. Диагностику функциональной активности маточных рудиментов целесообразно проводить: на первом этапе с помощью 2D УЗИ, при необходимости - 3D УЗИ в сочетании с доплерографией, а также МРТ.
4. Наличие болевого синдрома, а также выявление сопутствующей патологии - миомы или эндометриоза являются показаниями для хирургического лечения – удаления маточных рудиментов.
5. При однорогой матке целесообразно удаление рудиментарного рога во всех случаях, в том числе нефункционирующего, поскольку имеется вероятность роста, появление признаков функциональной активности, а также зачатия в рудиментарном роге, что может послужить причиной тяжелых осложнений.
6. У пациенток с аплазией матки и влагалища при проведении оперативного лечения по созданию искусственного влагалища целесообразно расширение показаний для превентивного удаления маточных рудиментов, особенно при выявлении клинических признаков функциональной активности.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Маточные рудименты: клиничко-морфологические варианты и оптимизация хирургического лечения / Макиян З.Н., Адамян Л.В., Асатурова А.В., **Ярыгина Н.К.** // **Акушерство и гинекология.** –2019.-№12.-С. 126-132.
2. Проллиферативный потенциал маточных рудиментов у пациенток с пороком развития гениталий / Ярыгина Н.К, Макиян З.Н., Адамян Л.В., Асатурова А.В. // Материалы XIV международного конгресса по репродуктивной медицине (Москва,2020). – С. 41-42
3. Uterine Rudiments: Clinical and Morphological Characterization Aimed to Improve the Treatment Outcomes / N.Yarygina, Z. Makiyan, L. Adamyan, A. Asaturova. // 13<sup>th</sup> Congress of the European Society of Gynecology (Vienna, Austria, 2019)

4. Маточные рудименты: клинико-морфологические варианты / З.Н. Макиян, Л.В. Адамян, А.В. Асатунова, Н.К. Ярыгина. // Материалы XXXII Международного Конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний (Москва, 2019). – С. 74-75.
5. Гигантская миома маточных рудиментов при аплазии матки и влагалища / Макиян З.Н., Адамян Л.В., **Ярыгина Н.К.**, Асатунова А.В. // **Акушерство и гинекология.** –2020.-№8.-С. 21-25.
6. Метод 3D ультразвукового сканирования матки для дифференциации внутриматочной перегородки седловидной формы и определения сосудистого кровотока с целью оперативного лечения: патент 2707865С1 Рос. Федерация: МПК А61В 8/00 (2006.01) СПК А61В 8/00 (2019.08), / Адамян Л.В., Макиян З.Н., А.И. Гус, Ярыгина Н.К., Асатунова А.В.; заявитель и патентообладатель ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России. – № 2019112646; заявл. 25.04.2019; опубл. 29.11.2019, Бюл. № 34.
7. **Ярыгина Н.К.**, Асатунова А.В., Ярыгин К.Н. Маточные рудименты: гистологическое и иммуногистохимическое исследование. // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.**2021;1: С106-114;
8. **Ярыгина Н.К.**, Ярыгин К.Н. Постнатальные плюрипотентные клетки: четверть века поисков. // **Клеточные технологии в биологии и медицине.** 2020. 4: С223-230;
9. Способ оценки состояния перфузионного кровотока маточных рудиментов с помощью цветового доплеровского картирования: патент RU2746663 Рос.Федерация: МПК А61В 8/06 (2006.01) СПК А61В 8/06 (2021.02) Макиян З.Н., Гус А.И., Ярыгина Н.К., Адамян Л.В.; заявитель и патентообладатель ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России.–№ 2020129984; заявл. 11.09.2020; опубл. 19.04.2021, Бюл. №11.

