На правах рукописи

ШРАМКО СВЕТЛАНА ВЛАДИМИРОВНА

ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ МАТКИ: КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2019 год

Работа выполнена в Новокузнецком государственном институте усовершенствования врачей – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные консультанты:

Баженова Людмила Григорьевна – доктор медицинских наук, профессор;

Гуляева Людмила Федоровна – доктор биологических наук, профессор.

Официальные оппоненты:

Доброхотова Юлия Эдуардовна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, заведующая кафедрой.

Тихомиров Александр Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, профессор кафедры.

Прасолов Владимир Сергеевич – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» Российской академии наук Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, лаборатория клеточных основ развития злокачественных заболеваний, главный научный сотрудник лаборатории.

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

Защита состоится «____»_____ 2019 г. в____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.048.01 при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» (101000, Москва, ул. Покровка, д. 22а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (http://moniiag.ru) Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» по адресу: 101000, Москва, ул. Покровка, д. 22а.

Автореферат разослан «___»_____2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор **Зайдиева Янсият Зайдилаевна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Широкая распространенность миомы матки и аденомиоза с тенденцией к «омоложению» заболеваний и сложностью выбора лечебной тактики представляет серьезную проблему для практического здравоохранения (Буянова С.Н., 2015; Подзолкова Н.М., 2015; Аганезова Н.В., 2016; Радзинский В.Е., 2017; Vilos G.A., 2015; Donnez J., 2016). Убедительные данные последних лет свидетельствуют о том, что аденомиоз и миома матки развиваются из мезенхимальных стволовых клеток и имеют общие молекулярно-генетические механизмы патогенеза (Баранов В.С., 2016; Moravek B., 2015; Yin P., 2015). Кроме того, заболевания чаще сочетаются (85%), нежели наблюдаются в изолированных формах, что затрудняет лечение, делая его неэффективным в 75% наблюдений (Дамиров М.М., 2015; Попов Э.Н., 2016; Yang Y. M., 2017; Stewart E.A., 2017). Многофакторная природа заболеваний не позволяет прогнозировать течение пролиферативного процесса в матке (Алтухова О.Б., 2016; Кухарчик Ю.В., 2017; Кудрявцева О.К., 2017; Бадмаева С.Ж., 2019). Даже строго персонифицированный подход с разработкой индивидуальной программы лечения миомы матки может лишь стабилизировать процесс, не гарантируя при этом полного излечения. После отмены лекарственных средств, а в ряде случаев и на фоне проводимой терапии, заболевание прогрессирует (Баширов Э.В., 2016; Тихомиров А.Л., 2017). Частота рецидивов после миомэктомии остается достаточно высокой (2,1-55%), в трети случаев (14-37%) пациентки подвергаются повторным оперативным вмешательствам (Андреева Е.Н., 2016; Буянова С.Н., 2018). В качестве альтернативы хирургическому способу в настоящее время широко применяются органосохраняющие регрессионные методы лечения (Агеев М.Б., 2017; Drayer S.M., 2015; Vilos G.A., 2015). Известно, что наличие аденомиоза, с одной стороны, снижает эффективность эмболизации маточных артерий (ЭМА), с другой – увеличивает риск малигнизации, что в условиях отсутствия гистологической верификации не всегда оправдано (Дамиров М.М., 2015; Wyatt A.R., 2016). Кроме того, ввиду идентичного кровотока, дифференциальная диагностика крупной клеточной миомы и лейомиосаркомы представляется крайне затруднительной, что может явиться причиной фатальных заблуждений (Marret H., 2012; Drayer S.M., 2015). Ультразвуковое исследование (УЗИ) в части определения гетеротопий при множественной миоме и больших размерах матки малоинформативно (Гуриев Т.Д., 2012; Гусаева Х.З., 2009). Данные магнитно-резонансной томографии тесно коррелируют с результатами гистологической вери-

фикации, но в ряде случаев проведение исследования может быть недоступно по разным причинам (Kuligowska E., 2005; Гуриев, Т.Д., 2012; Ferraz Z., 2017). К сожалению, клиническому методу, в плане верификации состояний, отводится лишь вспомогательная роль (Есенеева Ф.М., 2017; Козаченко А.В., 2017; Boeer B., 2014; Ates S., 2016). В свою очередь, детальное изучение клинико-анамнестических данных, преморбидного фона, иммунологических и молекулярно-генетических особенностей у больных с миомой матки и аденомиозом в сочетанных и изолированных формах в рамках одного клинического исследования позволит приблизиться к пониманию патогенетических механизмов развития заболеваний, разграничить факторы риска по их значимости и обоснованно выбирать варианты медикаментозной терапии и регрессионных методов лечения.

Степень разработанности темы исследования

В патогенезе миомы матки основная роль принадлежит нарушениям в синтезе и рецепции прогестерона, тогда как аденомиоз причисляется к эстрогенассоциированным опухолеподобным процессам (Тихомиров А.Л., 2006; Manta L., 2016; Proestling P., 2015; Yang Y.M., 2017). Считается, что неэффективность лечебных мероприятий сочетанных форм заболеваний обусловлена различием патогенетических механизмов (Адамян Л.В., 2006; Печенникова В.А., 2012; Гуриев Т.Д., 2012; Дамиров М.М., 2015; Попов Э.Н., 2016). Прогнозирование риска развития аденомиоза с определением морфологического типа узла имеет стратегическое значение для выбора тактики лечения (Унанян А.Л., 2012; Тихомиров А.Л., 2013). Так, использование комбинированных оральных контрацептивов (КОК) с целью контрацепции и стабилизации процесса представляется рискованным выбором при сочетании миомы и аденомиоза (Vercellini P., 2011). В свою очередь, применение регрессионных методик ограничено отсутствием возможности исключения лейомиосаркомы, когда необходим радикальный подход, и аденомиоза, способного снизить эффективность лечения (Veronica M., 2016; Qiang W., 2014; 2014; Puchar A., 2016; Jiang C., 2017). Клинико-генетическим исследованиям патогенетических механизмов миомы матки и аденомиоза посвящено множество работ (Запорожченко М.Б., 2015; Кудрина Е.А., 2016; Арутюнян А., 2016; Алтухова О.Б., 2016; Козаченко И.Ф., 2017; Кухарчик Ю.В., 2017; Кудрявцева О.К, 2017; Yang Q., 2016; Laganà A.S., 2017). Комплексная оценка и сравнительный анализ клинико-анамнестических данных, молекулярно-генетических и иммунологических особенностей различных вариантов пролиферативных заболеваний матки в рамках одного исследования не проводились.

Цель исследования – оптимизация лечебной тактики больных с миомой матки и аденомиозом путем определения клинико-анамнестических, иммунологических и молекулярно-генетических предикторов развития различных вариантов пролиферативных процессов в матке.

Для достижения поставленной цели определены следующие **задачи исследования:**

1. Определить предикторы развития различных вариантов пролиферативных заболеваний матки путем анализа клинико-анамнестических данных и преморбидного фона больных.

2. Изучить концентрации белков семейства макроглобулинов: альфа-2-макроглобулина (МГ), ассоциированного с беременностью альфа-2-гликопротеина (АБГ), их иммунокомплексов с IgG (МГ-IgG, АБГ-IgG); альфа-1-антитрипсина (АТ), лактоферрина (ЛФ), сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), провоспалительных цитокинов – интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), фактора некроза опухоли -α (TNF-α) в сыворотке крови у пациенток с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки.

3. Провести сравнительный анализ уровней экспрессии генов эстрогеновых α и β (*ERα, ERβ*) и прогестероновых (*PGR*) рецепторов в патологических участках и окружающем миометрии и половых стероидных гормонов в сыворотке крови у пациенток с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки.

4. Исследовать уровни экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN* (Phosphatase and TENsin homologue deleted on chromosome 10) в тканях матки при доброкачественных заболеваниях и лейомиосаркоме, установить его прогностическую значимость в определении риска развития злокачественной трансформации миометрия.

5. Провести сравнительный анализ иммуногистохимических показателей экспрессии маркера пролиферативной клеточной активности (Ki-67) и уровня экспрессии антител к антиапоптотическому онкобелку (Bc1-2) при различных вариантах доброкачественных пролиферативных заболеваний матки и лейомиосаркоме.

6. На основании сравнительной оценки клинико-иммунологических и молекулярно-генетических данных определить ведущие механизмы в развитии различных вариантов пролиферативных заболеваний матки и обосновать патогенетически направленную терапию.

7. Разработать алгоритм тактики ведения больных с пролиферативными заболеваниями матки, используя балльные шкалы клинической оценки риска развития аденомиоза в сочетании с миомой матки, клеточного морфотипа узла и лейомиосаркомы.

Научная новизна

Впервые был проведен сравнительный анализ клинико-анамнестических данных и преморбидного фона больных с миомой матки и аденомиозом в сочетанных и изолированных вариантах с простыми и клеточными узлами, а также лейомиосаркомой матки в рамках одного исследования, что позволило разграничить факторы риска развития различных вариантов пролиферативных заболеваний матки по их значимости и роли. В качестве предикторов развития простой миомы установлено наличие бесплодия и отсутствие родов в анамнезе, миомы матки в сочетании с аденомиозом – варикозной болезни нижних конечностей и аппендэктомии, клеточной миомы – заболеваний щитовидной железы со снижением ее функции, лейомиосаркомы матки – сахарного диабета и ожирения.

Сравнительное изучение уровней белков семейства макроглобулинов, их иммунных комплексов с IgG, острофазных белков и провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки и лейомиосаркоме установило наличие типичной воспалительной реакции с нарастанием степени ее выраженности от изолированных форм заболеваний к сочетанным с достижением максимума при лейомиосаркоме.

Впервые проведено сравнительное молекулярно-генетическое исследование экспрессии генов рецепторов половых стероидных гормонов и опухолевого супрессора *PTEN* у больных с различными вариантами доброкачественных пролиферативных заболеваний матки и лейомиосаркомой в рамках одного исследования. В узловых образованиях изолированной миомы матки, как простой, так и клеточной, установлено преобладание экспрессии генов прогестероновых рецепторов над эстрогеновыми, в очагах изолированного аденомиоза экспрессия генов эстрогеновых рецепторов доминировала над прогестероновыми, при сочетании миомы матки и аденомиоза экспрессия генов рецепторов половых стероидных гормонов определялась равнозначной. Ткани лейомиосаркомы матки характеризовались крайне низкой экспрессией генов рецепторов половых стероидных гормонов.

Впервые установлена роль угнетения экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN* в развитии злокачественной трансформации миометрия и предложено использование данного показателя в качестве маркера лейомиосаркомы.

На основании выявленных клинико-анамнестических предикторов развития различных вариантов пролиферативных заболеваний матки разработаны шкалы балльных оценок риска развития различных пролиферативных процессов (аденомиоза в сочетании с миомой матки, клеточной миомы и лейомиосаркомы), что позволяет оптимизировать лечебно-тактические подходы и диспансеризацию больных.

Теоретическая и практическая значимость

Предложены шкалы балльной оценки риска развития аденомиоза, клеточной миомы и лейомиосаркомы матки с целью выбора эффективной тактики ведения, персонификации лечебных и противорецидивных мероприятий.

Перед назначением противорецидивного лечения больным с пролиферативными заболеваниями матки предложено выполнять исследование гормонального тиреоидного профиля и УЗИ щитовидной железы с целью выявления заболеваний и назначения соответствующей терапии.

Исследование экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN* в ткани удаленного миоматозного узла позволит прогнозировать благоприятное течение пролиферативного процесса в матке, определять риски злокачественной трансформации миометрия и осуществлять эффективную диспансеризацию больных.

Характеристики изолированной миомы матки, аденомиоза в сочетанных и изолированных вариантах по преобладанию экспрессии генов эстрогеновых либо прогестероновых рецепторов позволяют обоснованно определять направленность противорецидивной терапии с использованием блокаторов прогестероновых рецепторов при изолированной миоме матки, антиэстрогенных препаратов (АГнРГ– аналоги гонадотропин-рилизинг-гормона) и прогестагенов – при изолированном аденомиозе. Высокая частота воспалительных изменений в удаленных органах при значимо высоком содержании провоспалительных цитокинов и острофазовых белков в сыворотке крови, наряду с отсутствием значимой экспрессии генов рецепторов половых стероидных гормонов в патологических узловых образованиях у больных с сочетанием миомы матки и аденомиоза, свидетельствует о необходимости включения в схемы лечения нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), ингибиторов циклооксигеназы-2 (ингибиторов ЦОГ-2).

Методология и методы исследования

Объектом исследования в диссертационной работе явились пролиферативные заболевания матки (миома, аденомиоз) в сочетанных и изолированных вариантах и злокачественная лейомиосаркома, представляющие проблемное поле в плане разграничения состояний, определения риска, прогноза течения и выбора лечебной тактики, поэтому подлежат изучению. Предметом исследования стало изучение особенностей анамнеза и преморбидного фона каждого из вариантов заболеваний, изменения содержания острофазовых реактантов, провоспалительных цитокинов, белков семейства макроглобулинов, стероидных гормонов в венозной крови и профилей генов рецепторов половых стероидных гормонов, опухолевого супрессора *PTEN*, маркера клеточной пролиферации Ki-67 и антиапо-

птотического белка Bc1-2 в тканях матки. Исследование проводилось в период 2009–2016 гг. в клиниках г. Новокузнецка Кемеровской области. При написании работы в методологическом плане применялась совокупность общенаучных и специальных методов. В числе общенаучных теоретических методов использовался способ восхождения от абстрактного к конкретному, состоящий в выявлении наиболее характерных особенностей преморбидного фона и факторов риска, способствующих формированию определенного клинико-патогенетического варианта пролиферативного процесса в матке. Кроме того, применялся метод логистической регрессии, заключавшийся в разработке математических моделей заболеваний с учетом значимых клинико-анамнестических и лабораторных показателей для объективизации оценки риска наличия аденомиоза, клеточной миомы матки и лейомиосаркомы. Из экспериментальных методов исследования использовались: метод наблюдения (ретроспективный анализ медицинских карт прооперированных больных с 1994 по 2016 гг. в онкологическом диспансере и гинекологической клинике), метод эксперимента (изучение сывороточного содержания острофазовых реактантов, провоспалительных цитокинов, стероидных гормонов в образцах венозной крови пациенток перед оперативным вмешательством, уровней экспрессии генов рецепторов половых стероидных гормонов, опухолевого супрессора *PTEN*, маркера клеточной пролиферации Ki-67 и антиапоптотического белка Bcl-2 в тканях матки), метод сравнения (анализ лабораторных данных в зависимости от морфологического типа узла, наличия аденомиоза, злокачественной трансформации миометрия). Из эмпирически-теоретических методов использовались методы аналогии, индукции и дедукции (сравнение полученных результатов с опубликованными данными других авторов, позволяющее выдвинуть ряд предположений по различиям в патогенезе пролиферативных заболеваний матки, а также по наличию факторов риска, позволяющих прогнозировать течение заболевания, персонифицировать лечебную тактику).

Положения, выносимые на защиту:

1. Факторами риска развития изолированной миомы матки являются бесплодие и отсутствие родов; клеточного морфотипа узла – заболевания щитовидной железы со снижением ее функции; изолированного аденомиоза – нарушения менструального цикла с периода менархе, наличие заболеваний желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарного комплекса, внутриматочные вмешательства; аденомиоза в сочетании с миомой матки – многократные аборты, воспалительные заболевания органов малого таза, варикозная болезнь нижних конечностей, аппендэктомия в анамнезе; лейомиосаркомы матки – ожирение и сахарный диабет у женщин с миомой матки в возрасте старше 50 лет.

2. Все пролиферативные процессы в матке сопровождаются значимым снижением сывороточной концентрации МГ, повышением содержания ЛФ и гиперсекрецией провоспалительных цитокинов, что соответствует типичной воспалительной реакции с увеличением степени ее выраженности от изолированных заболеваний к сочетанным, достигая максимума при лейомиосаркоме.

3. Молекулярно-генетические изменения в узлах изолированной миомы матки характеризуются высокой экспрессией гена опухолевого супрессора *PTEN* и преобладанием экспрессии генов прогестероновых рецепторов над эстрогеновыми, что свидетельствует об отсутствии риска малигнизации и обоснованном применении блокаторов прогестероновых рецепторов. В очагах изолированного аденомиоза низкая экспрессия гена *PTEN* и доминирование экспрессии генов эстрогеновых рецепторов над прогестероновыми свидетельствует о возможном риске злокачественной трансформации и обоснованности применения антиэстрогенных препаратов и прогестагенов. В узлах миомы матки, ассоциированной с аденомиозом, низкая экспрессия гена *PTEN* и равные уровни экспрессии генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, наряду с высокой частотой воспалительных изменений в органах и выраженной реакцией острофазовых показателей в сыворотке крови, свидетельствуют о риске малигнизации и переключении клеточной регуляции с гормональных механизмов на провоспалительные, что требует включения в лечебные схемы патогенетически обоснованных НПВС.

4. Основная роль в росте простых миоматозных узлов и прогрессии изолированного аденомиоза принадлежит процессам подавления апоптоза. В клеточных миомах и миоме в сочетании с аденомиозом процессы пролиферации и апоптоза равнозначны. Главная роль в механизмах прогрессирования злокачественной трансформации миометрия принадлежит процессам пролиферации.

5. Разработанная система балльных шкал клинической оценки риска развития миомы матки в сочетании с аденомиозом, клеточного морфотипа узла и лейомиосаркомы матки позволяет персонифицировать лечебную тактику у больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки.

Личное участие автора в получении результатов исследования

Представленные в диссертации результаты исследований были получены автором самостоятельно. С.В. Шрамко проделала значительный объем аналитической работы, клинических обследований, хирургических вмешательств, послеоперационных наблюдений и лечения, ряд экспериментальных исследований. Было обследовано 200 пациенток с доброкачественными заболеваниями матки и лейомиосаркомой, выполнен ретроспективный анализ 149 медицинс-

ких карт пациенток, прооперированных с 1994 по 2016 гг. В исследование включено 412 женщин: 119 пациенток – с простой изолированной миомой, 66 – с клеточной изолированной миомой, 99 – с сочетанием миомы матки и аденомиоза, 36 – с изолированным аденомиозом, 29 – с лейомиосаркомой. Группу сравнения составили 63 женщины без миомы и аденомиоза. Всем больным выполнено оперативное лечение, диагноз верифицировался в послеоперационном периоде, образцы сыворотки крови получены перед хирургическим вмешательством, ткани матки – в ходе операции. Установлены предикторы развития различных вариантов пролиферативных заболеваний матки, разработаны балльные шкалы клинической оценки риска развития аденомиоза, клеточной миомы и лейомиосаркомы. Изучены сывороточные концентрации белков семейства макроглобулинов, их иммунных комплексов с IgG, острофазных белков (лактоферрина, антитрипсина), провоспалительных цитокинов, половых стероидных гормонов, уровни экспрессии генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в тканях матки, уровни экспрессии антител к маркеру пролиферативной клеточной активности (Ki-67), онкобелку с антиапоптотическим действием (Bcl-2) при различных вариантах пролиферативных заболеваний матки. Установлено, что при изолированной миоме матки преобладает экспрессия генов прогестероновых рецепторов над эстрогеновыми, при изолированном аденомиозе наблюдается доминирование экспрессии генов эстрогеновых рецепторов над прогестероновыми, при сочетании миомы матки и аденомиоза гены эстрогеновых и прогестероновых рецепторов экспрессируются в равной степени, при этом в удаленных органах наиболее часто наблюдались воспалительные изменения. Изучение экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN* в тканях матки при доброкачественных заболеваниях и лейомиосаркоме показало его высокий уровень в узлах изолированной миомы, причем значимо – в узлах клеточной миомы в сравнении с сопоставимыми между собой показателями экспрессии в узлах лейомиосаркомы, при сочетании миомы матки с аденомиозом и изолированного аденомиоза.

Степень достоверности результатов исследования

О достоверности результатов диссертационного исследования свидетельствует представленный материал: проанализировано 349 историй болезни, 200 больным проведено иммунохимическое исследование – перед выполнением операции, патогистологическое исследование выполнялось в послеоперационном периоде (верифицирован диагноз), в 113 случаях проведено патоиммуногистохимическое исследование. В 58 случаях выполнено молекулярно-генетическое исследование, изучена экспрессия генов стероидных половых рецепторов и опухолевого супрессора *PTEN* в тканях удаленных препаратов: узловых образовани-

ях и окружающего их миометрия. Проведены современные методы статистической обработки материала с использованием сертифицированных программ для биостатистики (Instat II, SAS 9.4 и STATISTICA12 и IBM SPSS Statistics 22).

Апробация и внедрение результатов исследования в практику

Основные результаты доложены на: 19-й Международной научно-практической конференции «Достижения и проблемы репродуктивной медицины», посвященной 115-летию со дня рождения проф. Л.А. Решетовой – Кемерово, 2015; III Международном конгрессе «Новые технологии в акушерстве, гинекологии, перинатологии и репродуктивной медицине». – Новосибирск, 2016; 20-й Региональной научно-практической конференции с международным участием «Беременность – окно в будущую жизнь». – Кемерово, 2016; 22-й Международной научно-практической конференции «Перинатология в Сибири: достижения и проблемы». – Кемерово, 2018; 23-й Международной научно-практической конференции «Доказанное и сомнительное в акушерстве и гинекологии». – Кемерово, 2019.

На основании результатов проведенных исследований даны рекомендации в практическую работу клинических баз кафедры акушерства и гинекологии НГИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России – гинекологические отделения ГАУЗ КО «Новокузнецкая городская клиническая больница №1», женские консультации г. Новокузнецка. Результаты внедрены в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии НГИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Основные рекомендации включены в семинары и лекции для врачей курсантов, клинических ординаторов и аспирантов.

Апробация диссертации проведена 24 апреля 2018 г. на заседании Ученого совета НГИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Публикации

Материалы диссертации нашли отражение в 20 опубликованных работах, из них – 4 входят в перечень изданий МБД, 15 – в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованный ВАК Минобрнауки России. Получено три патента на изобретение.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, пяти глав, посвященных анализу данных, полученных в ходе работы, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка используемой литературы. Работа изложена на 241 машинописной странице, иллюстрирована 46 таблицами и 42 рисунками. Библиография включает 381 литературных источника, из них – 138 отечественных и 243 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Для решения поставленных задач был проведен анализ клинико-анамнестических данных и преморбидного фона 349 пациенток с миомой матки и аденомиозом в сочетанных и изолированных формах, с различными морфотипами узлов (простая, клеточная миома), а также с лейомиосаркомой. В 149 случаях анализ проведен по данным архивных материалов больных, прооперированных в условиях ГАУЗ КО «Новокузнецкая городская клиническая больница № 1» с 2007 по 2016 год, а также пациенток с лейомиосаркомой, прооперированных в онкологическом диспансере г. Новокузнецка с 1994 по 2016 год.

В проспективное исследование вошло 200 больных с доброкачественными пролиферативными заболеваниями матки и лейомиосаркомой: простой изолированной миомой (М) – 92, клеточной изолированной миомой (КМ) – 41, изолированным аденомиозом (А) –15, сочетанием миомы и аденомиоза – 42, из них с простой миомой в сочетании с аденомиозом (М+А) – 31, клеточной миомой в сочетании с аденомиозом (КМ+А) –11, лейомиосаркомой матки (ЛМС) – 10. Диагноз верифицировался после выполнения морфологического исследования в послеоперационном периоде. В 113 случаях дополнительно проведено патоиммуногистохимическое исследование и в 58 – молекулярно-генетическое: изучена экспрессия генов рецепторов половых стероидных гормонов и опухолевого супрессора *PTEN* в тканях удаленных органов (узловых образованиях и окружающем миометрии). В 63 случаях выполнен ретроспективный анализ соматического статуса и паритета у женщин без миомы матки и аденомиоза, обратившихся в плановом порядке с целью профилактического осмотра на прием в женскую консультацию (рис. 1).

Иммунохимическое исследование включало:

– исследование белков семейства макроглобулинов: АБГ, МГ, острофазного белка АТ в сыворотке крови – проводилось методом количественного ракетного иммуноэлектрофореза с использованием моноспецифических антисывороток против данных белков;

– в исследовании уровней иммунокомплексов МГ-IgG и АБГ-IgG использовали модификацию иммуноферментного анализа (ИФА). При этом на планшет первично наслаивали аффиноочищенные антитела против данных белков, образцы сывороток разводили натрий-фосфатным буфером, содержащим 0,15 М NaCl, PH 7,4.

.

Рисунок 1 – Дизайн исследования

В качестве калибратора использовали высокоочищенный IgG человека, коньюгатом – аффиноочищенные кроличьи антитела против Fc-фрагмента IgG, меченные пероксидазой хрена по методу P. Tijssen, E. Kurstar (1984). Для проведения метода использовали аппаратуру фирмы Bio-Rad (США): bomer Model 1250, автоматический анализатор Model 3550 – UV Microplate Reader и управляющую компьютерную программу Microplate Manager® Software.

Уровни ЛФ, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF-α, VEGF в сыворотке крови определялись методом твердофазного ИФА с использованием коммерческих тест - систем. Содержание гормонов определяли при помощи иммунофлуоресцентного анализа.

Молекулярно-генетическое исследование

Для определения экспрессии генов рецепторов половых стероидных гормонов и *PTEN* были использованы образцы тканей матки, удаленных в ходе хирургического вмешательства: узлов и окружающего их миометрия. Взятие образцов миометрия проводилось с согласия больных по стандартному протоколу Этического комитета РФ. Уровень экспрессии исследуемых генов определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (ОТ-ПЦР) с использованием Maxima SYBR Green qPCR Master Mix («Fermentas») на амплификаторе IQ5 («Bio-Rad Laboratories», США). В качестве гена сравнения использовали «ген домашнего хозяйства» GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа). В ПЦР использовали специфические праймеры к последовательностям генов рецепторов половых стероидных гормонов: эстрогеновых *α* (*ERα),* эстрогеновых *β (ERβ),* прогестероновых *(PGR),* опухолевого супрессора *PTEN*.

Патоиммуногистохимическое исследование

Выполнялось макро- и микроскопическое патогистологическое и иммуногистохимическое исследование с морфометрией. С целью исключения погрешностей применялся компьютерный анализ с использованием автоматизированной морфометрической счетной программы (West Medica HandelsgmbH – Bio Vision 4.0 серии). Гистологическое исследование проводилось на микроскопе Olympus CX 31 (Japan) с цифровой видеокамерой Nikon digital sight - Fi 1 (Japan). При изучении объектов использовались объективы микроскопа с увеличением EPlan 4x/0.10., LWD 20x/0.40., EPlan 40x/0.65., EPlan 100/1.25 Oil Pol, а также окуляра CF1 10 x 20. Для коррекции скрытых гистологических дефектов использовалось наложение гамма - фильтров со смягчением компьютерного изображения и сглаживанием артефициальных факторов. Иммуногистохимическое исследование выполнялось с использованием антител к Ki-67 и Bcl-2. Мы использовали мультимерную безбиотиновую систему детекции – REVEAL Biotin-Free Polyvalent DAB (Spring Bioscience, США). При этом маркерный фермент конъюгировался со вторичными антителами при помощи небольших линейных молекул (мультимерных линкеров).

Статистическая обработка данных

Процедуры статистического анализа выполнялись с помощью статистических пакетов SAS 9.4 и STATISTICA12 и IBM-SPSS Statistics 22. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05 либо 0,1. В случае превышения достигнутого уровня значимости статистического критерия этой величины принималась нулевая гипотеза. Использованы: критерий Стьюдента, Колмогорова-Смирнова, Шапиро-Уилка, Крамера-фон Мизеса и Андерсона-Дарлинга. Дескриптивные статистики в тексте представлены как M±m, где M – среднее, m – ошибка среднего.

Исследование взаимосвязи между парами дискретных качественных признаков проводилось с использованием анализа парных таблиц сопряженности. Использованы: критерий χ^2 по Пирсону, точный критерий Фишера с двусторонней доверительной вероятностью (при одной или более ожидаемых частотах в таблице сопряженности менее 5%). Для коррекции множественных сравнений применялась поправка Бонферрони-Холма. В качестве количественной оценки степени взаимосвязи двух переменных применялся коэффициент V-Крамера. Для всех статистических критериев ошибка первого рода устанавливалась равной 0,05. Нулевая гипотеза (отсутствие различий) отвергалась, если вероятность (p) не превышала ошибку первого рода. Для построения математических моделей использовалась логистическая регрессия – метод принудительного включения. Общая оценка согласия модели и реальных данных оценивалась с использованием теста Хосмера-Лемешева. Использован критерий Колмогорова-Смирнова для двух выборок. Качество модели оценивалось с помощью ROC-кривой. Определение порогового балла при построении скрининговой шкалы осуществлялось с помощью критерия Юдена. Выбор предикторов для включения в модель выполнялся на основе комбинации индекса Джини и критерия Хи-квадрат.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ клинико-анамнестических особенностей в группах больных

Группа больных с простой изолированной миомой матки (М) была представлена 119-ю пациентками в возрасте от 21 до 69 лет, средний возраст составил 43,52±8,7 года. В трети случаях (42/35,3%) женщины не имели родов (χ^2=17,69; p<0,001; p^{bf}<0,001), в том числе по причине бесплодия – 34 (28,6%) (М+А χ^2=39,51; p<0,001; p^{bf}<0,001, А χ^2=7,74; p=0,005; p=^{bf}0,011, ЛМС χ^2=11,47; p=0,001; p^{bf}=0,001). Уровень бесплодия у больных М определялся в 6 раз выше, нежели в группах сравнения. В редких случаях имелись полипы эндометрия (ПЭ) – 10 (8,4%), простая гиперплазия эндометрия (ГПЭ) отсутствовала.

Нами установлена высокая частота доброкачественных пролиферативных заболеваний молочных желез у женщин с простой миомой – в 4,3 раза выше, нежели в группах сравнения (20/16,8%) ($\chi^2$17; p<0,001; p^{bf}<0,001), в связи с чем пациентки в 6,8 раза чаще подвергались оперативным вмешательствам на молочной железе (14/11,8%) (χ^2=16,11; p<0,001; p^{bf}=0,003). Это подтверждает данные литературы об увеличении частоты заболеваний молочных желез у женщин с отсутствием лактации в анамнезе, по причине сохранения инфантильного типа строения протокового эпителия, наиболее чувствительного к воздействию вредных факторов (Радзинский В.Е., 2013; Рожкова Н.И., 2015).

Клиническая картина в группе характеризовалась гиперполименореей (46/38,7%) и умеренным болевым синдромом (49/41,2%). В 3-х (2,5%) случаях наблюдался рецидив миомы матки, при этом в 13 раз чаще рецидив заболевания ассоциировался с наступлением эктопической беременности (χ^2=11,96; p<0,001; p^{bf}=0,019; V=0,157). Простые узлы чаще были средних размеров (45/37,8%), интерстициальные (72/60,5%), с типичным строением (80/67,2%) и единичные (52/43,7%) (χ^2=14; p<0,001; p^{bf}=0,002). В 2 раза чаще единичные узлы определялись у больных с бесплодием (χ^2=8,94; p<0,001; p^{bf}<0,001; V=0,198). Воспалительные процессы органов малого таза (19/16%) и эндоцервицит (27/22,7%) наблюдались значительно реже, чем у больных А, М+А и КМ+А (χ^2=11,44; p<0,001; p^{bf}<0,001). В 2-х (1,7%) случаях установлен папиллярный рак яичника.

Группа больных с изолированной клеточной миомой матки (КМ) была представлена 66-ю пациентками в возрасте от 28 до 60 лет, средний возраст больных составил 41,92±7,03 года. Роды в группе отсутствовали (29/43,9%) намного чаще (p^{bf}<0,001), чем в группах с аденомиозом. ПЭ (9/13,6%) наблюдались в 4,5 раза реже (χ^2=8,13; p=0,004; p^{bf}=0,038), нежели у пациенток с аденомиозом в изолированном и сочетанном варианте, ГПЭ отсутствовала. Высокая частота оперативных вмешательств на матке во время беременности (12/18,2%), на наш взгляд, не случайна: кесарево сечение (11/16,6%) и ушивание перфорационного отверстия на матке после медицинского аборта (1/1,5%). Сформированные преваскулярные зоны роста вокруг поврежденной структуры миометрия призваны способствовать процессам регенерации и заживления, но могут являться очагами асинхронного роста, активными зонами неоангиогенеза, где и формируются миоматозные узлы (Тихомиров А.Л., 2006; Гуриев Т.Д., 2012). Несмотря на отсутствие значимых различий в других группах, оперативные вмешательства во время беременности стоит рассматривать одним из факторов риска развития клеточного морфотипа миомы. У больных с КМ чаще (χ^2=14,96;

$p<0,001$; $p^{bf}=0,004$), чем в группах сравнения, регистрировались заболевания щитовидной железы. Так, гипотиреоз (10/15,2%) встречался в 5,4 раза чаще ($\chi^2=16,62$; $p<0,001$; $p^{bf}=0,002$), аутоиммунный тиреоидит (АИТ) (4/6,1%) – в 17,2 раза чаще ($\chi^2=12,4$; $p<0,001$; $p^{bf}=0,015$), узловой зоб наблюдался в 2-х (3%) случаях. Наличие тесной функциональной связи щитовидной железы с репродуктивными органами предполагает сочетанные нарушения двух систем. Возможно, гипотиреоз придает интенсивный темп пролиферативным процессам, что позволяет причислять его к факторам риска развития клеточной миомы (Кузнецова И.А., 2007; Никонова С.И., 2002).

Клиническая картина характеризовалась гиперполименореей в 26 (39,4%) случаях и умеренным болевым синдромом (29/43,9%). Клеточные узлы чаще были больших размеров (27/40,9%), в каждом 3-м случае наблюдались гигантские (18/27,3%) и средние (16/24,2%) узлы. Преобладал множественный характер узлов (43/65,2%) с межмышечным расположением (32/48,5%). Иногда миомы располагались атипично (14/21,2%) или центрипетально (13/19,7%). Характерным было наличие высокой частоты дистрофических изменений в узлах (20/30,3%) ($\chi^2=13,86$; $p<0,001$; $p^{bf}=0,005$). Некрозы в узлах наблюдались в 4-х (6,1%) случаях, при этом чаще всего при использовании в лечении комбинированных оральных контрацептивов (КОК) ($\chi^2=33,27$; $p<0,001$; $p^{bf}<0,001$; $V=0,188$). При патогистологическом исследовании воспалительные изменения внутренних половых органов установлены в 11 (16,7%) случаях, шейки матки – в 20 (30,3%). Случаи рака половых органов в группе больных с КМ отсутствовали.

Группа больных с сочетанием простой миомы матки и аденомиоза (М+А) была представлена 73 пациентками в возрасте от 35 до 69 лет, средний возраст составил 47,38±6,38 лет. Наличие полименореи с периода менархе (15/20,5%) выделяло больных с сочетанной формой заболевания и свидетельствовало об изначальном формировании неблагоприятного преморбидного фона. Пациентки в группе значимо чаще рожали (67/91,8%) и в 2,5 раза чаще подвергались выполнению многократных абортов (42/57,5%) ($\chi^2=32,2$; $p<0,001$; $p^{bf}<0,001$), что позволяет согласиться с рядом авторов, причисляющих роды и многократные аборты к факторам риска развития аденомиоза (Taran F.A., 2010; Зотова, О.А., 2013; Дамиров М.М., 2015). Отличительной особенностью явилась высокая частота воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ) (30/41,1%) ($\chi^2=14,04$; $p<0,001$; $p^{bf}=0,001$) и патологии эндометрия в анамнезе ($\chi^2=13,94$; $p<0,001$; $p^{bf}=0,003$): полип эндометрия – у 22 (30,1%) пациенток, ГПЭ – в 11 (15,1%) случаях ($\chi^2=8,67$; $p=0,003$; $p^{bf}=0,032$). Женщины в 5,5 раза чаще (26/35,6%) страдали варикозной болезнью нижних конечностей

(χ^2=44,35; p<0,001; p^{bf}<0,001). Понимание того, что эндометрий способен врастать только в поврежденную соединительную ткань, объясняет высокую частоту аденомиоза у данной категории больных и подтверждает возможность его развития с позиции генетически детерминированной соединительнотканной недостаточности (Улезко-Строганова К.П., 1941; Дамиров М.М., 2015). Тем более, что в группе больных имелся еще ряд факторов, усугубляющих несостоятельность соединительной ткани: частые внутриматочные вмешательства, воспалительные процессы матки и роды. В группе выявлены случаи рака эндометрия (2/2,7%), рак маточной трубы (1/1,4%) и сочетание рака яичника и маточной трубы (1/1,4%). Больные в 3,3 раза чаще (χ^2=13,16; p<0,001; p^{bf}=0,005) страдали заболеваниями дыхательной системы (14/19,2%) и в 3,8 раза чаще подвергались выполнению аппендэктомии (12/16,4%) (χ^2=13,8; p<0,001; p^{bf}=0,012). На сегодняшний день не подлежит сомнению важная роль лимфоидной ткани червеобразного отростка в формировании иммунной защиты организма в целом (Sanders N.L., 2013; Kaderli R., 2014). В свою очередь, низкий уровень соматического здоровья, высокая частота воспалительных процессов половых органов и рака является подтверждением исходной иммуносупрессии у больных с сочетанием миомы матки и аденомиоза.

Нарушение менструального цикла было характерно для клинической картины у больных М+А (χ^2=9,6; p=0,002; p^{bf}=0,041), при этом чаще наблюдалась гиперполименорея (47/64,4%). Ациклические кровотечения (9/12,3%) в 10,6 раза чаще сопутствовали случаям лечения «Дюфастоном» (χ^2=46,52; p<0,001; p^{bf}<0,001; V=0,243). Болевой синдром обычно имел умеренно выраженные проявления (48/65,8%). Простые узлы в сочетании с аденомиозом чаще были больших размеров (39/53,4%), множественные (61/83%) (χ^2=22,49; p<0,001; p^{bf}<0,001), имели типичное строение (50/68,5%) и межмышечное расположение (39/53,4%). Отличительной особенностью при патоморфологическом исследовании установлена высокая частота ГПЭ (21/28,8%) (χ^2=17,54; p<0,001; p^{bf}<0,001), которая сочеталась с диффузной формой аденомиоза (49/67,1%), преобладавшей в данной группе. В каждом 3-м случае регистрировались ВЗОМТ (20/27,4%). В 2,2 раза чаще (44/60,3%) М+А ассоциировалась с эндоцервицитом (χ^2=26,7; p<0,001; p^{bf}<0,001), причем у женщин с выскабливаниями стенок полости матки в анамнезе по поводу патологии эндометрия (χ^2=12,99; p<0,001; p^{bf}=0,003; V=0,195).

Группа больных с сочетанием клеточной миомы и аденомиоза (КМ+А) была представлена 26-ю пациентками в возрасте от 34 до 55 лет, средний возраст составил 46,61±5,46 лет. С периода менархе женщины в 2 раза ча-

ще (10/38,5%) страдали меноррагией (χ^2=16,63; p<0,001; pbf<0,001; V=0,161), все имели роды, в каждом 2-м случае – единичные аборты (13/50%), в каждом 3-м – многократные (8/30,8%). ВЗОМТ в анамнезе отмечались в 7 (26,9%) случаях, ПЭ – в 12 (46,2%), ГПЭ – у 4-х (15,4%) пациенток. Как и в группе больных с КМ, установлена высокая частота заболеваний щитовидной железы. Так, узловой зоб (4/15,4%) наблюдался в 5,5 раза чаще (χ^2=10,65; p=0,001; p^{bf}=0,036), в связи с чем, больные в 16,6 раза чаще подвергались оперативным вмешательствам (4/15,4%) на щитовидной железе (χ^2=25,58; p<0,001; p^{bf}<0,001).

В клинической картине преобладали гиперполименорея (19/73,1%) и умеренный болевой синдром (12/46,2%). В 2 раза чаще наблюдалась меноррагия, приводящая к анемии у женщин с многократными абортами в анамнезе (χ^2=11,59; p<0,001; p^{bf}=0,014; V=0,214), в 5-6 раз чаще при использовании КОК (χ^2=14,57; p<0,001; p^{bf}=0,006; V=0,175), «Норколута» (χ^2=20,36; p<0,001; p^{bf}<0,001; V=0,175) и у женщин с выскабливаниями стенок полости матки в анамнезе по поводу полипа эндометрия (χ^2=19,84; p<0,001; p^{bf}<0,001; V=0,244). При патоморфологическом исследовании диффузная форма аденомиоза преобладала (16/61,5%), воспалительные процессы матки и придатков матки наблюдались в каждом 3-м случае (8/30,7%), в каждом 2-м (15/57,7%) – эндоцервицит. Преобладал множественный характер узлов (23/88,5%) (χ^2=9,89; p=0,002; p^{bf}=0,018) с атипичным расположением (12/46,2%) (χ^2=15; p<0,001; p^{bf}=0,003) и дистрофическими изменениями (14/53,8%) (χ^2=12,9; p<0,001; p^{bf}=0,008). Причем дистрофия в узлах в 3,3 раза чаще сопутствовала эндометриту (χ^2=10,85; p<0,001; p^{bf}=0,015; V=0,142), в то время как узловой аденомиоз в 2,6 раза чаще наблюдался при хроническом сальпингите (χ^2=9,04; p=0,003; p^{bf}=0,021; V=0,137).

Группа больных с изолированным аденомиозом (А) была представлена 36-ю пациентками в возрасте от 31 до 65 лет, средний возраст составил 47,66±7,29 лет. С момента наступления менархе больные в 2,7 раза чаще отмечали наличие меноррагии (15/41,7%) (χ^2=15,13; p<0,001; p^{bf}=0,002), в 2-х случаях (5,6%) раннее менархе ассоциировалось с развитием диффузного аденомиоза (χ^2=9,64; p=0,002; p^{bf}=0,006; V=0,166). Это подтверждает причинность дисфункции гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы с изначальным нарушением регуляции у больных с аденомиозом (Стрижаков А.Н., 2014; Оразов М.Р., 2016). Пациентки с аденомиозом чаще были рожавшими (32/88,9%), с единичными (15/41,7%) и многократными абортами (13/36,1%), в каждом 3-м случае – с ВЗОМТ (10/27,8%) в анамнезе. Характерным было наличие высокого уровня патологии эндометрия (χ^2=22,2; p<0,001; p^{bf}<0,001), в 2,5 раза выше, нежели в группах больных с М и КМ: ПЭ установлен в 14 (38,9%) случаях, ГПЭ – в 8

(22,2%). В связи, с чем пациентки в 4,3 раза чаще подвергались выскабливаниям стенок полости матки (χ^2=25,15; p<0,001; p^{bf}<0,001): однократным – в 15(41,7%) случаях и многократным – в 13(36,1%). У каждой 2-й женщины (21/58,3%) в анамнезе отмечалось наличие эктопии цилиндрического эпителия, в связи с чем пациентки в 2 раза чаще (χ^2=13,02; p<0,001; p^{bf}=0,002) подвергались выполнению диатермоконизации шейки матки (ДЭК) (21/58,3%). Это является веским аргументом в поддержку ключевого патогенетического механизма развития аденомиоза – механического повреждения переходной зоны (Стрижаков А.Н., 2014). Женщины с А в 1,9 раза чаще страдали анемией (25/69,4%) (χ^2=15,01; p<0,001; p^{bf}<0,001) и в 2,7 раза чаще – заболеваниями желудочно-кишечного тракта (21/58,3%) (χ^2=23,35; p<0,001; p^{bf}<0,001). Установлена высокая частота холецистэктомии в анамнезе (6/16,7%) – в 26,1 раза чаще, нежели в группах сравнения (χ^2=37,03; p<0,001; p^{bf}<0,001). Известно, что гепатобилиарной системе и кишечнику принадлежит ведущая роль в инактивации и конъюгации стероидных гормонов. Нарушение метаболической функции печени закономерно способствует длительной циркуляции эстрогенов и их активных метаболитов, что поддерживает состояние относительной гиперэстрогении у данной категории больных (Гуриев Т.Д., 2012; Дамиров М.М., 2015). Подтверждением наличия гиперэстрогении у больных аденомиозом служит высокая частота ГПЭ и эктопии цилиндрического эпителия в анамнезе.

Клиническая картина характеризовалась гиперполименореей (22/61,1%) и умеренным болевым синдромом (16/44,4%) с учащенным мочеиспусканием (4/11,1%) и диспареунией (1/2,8%). В каждом 3-м случае показанием к операции являлись опухоли яичников (13/36,1%) (χ^2=38,68; p<0,001; p^{bf}<0,001), при этом в 2 раза чаще у женщин с заболеваниями желудочно-кишечного тракта (χ^2=8,01; p=0,005; p^{bf}=0,028; V=201). В основном диагностировались доброкачественные опухоли (11/30,6%) (χ^2=6,37; p=0,011): эпителиальные (8/22,2%), текома (1/2,8%), дермоидная (1/2,8%). Текаматоз установлен в 2 (5,6%) случаях, гранулезоклеточная опухоль – 1 (2,8%). В 2-х (5,6%) случаях операция выполнена в связи с увеличением объема матки в перименопаузе, ассоциированного с наличием текаматоза (χ^2=11,03; p<0,001; p^{bf}=0,022; V=338), нарушением толерантности к углеводам (χ2 41,3; p<0,001; p^{bf}<0,001; V=0,255), ожирением (χ^2=6,13; p=0,013; V=0,184) и АГЭ (χ^2 17,06; p<0,001; p^{bf}<0,001; V=0,172). При патогистологическом исследовании у больных с А в 1,9 раза чаще наблюдалась патология эндометрия (27/75%) (χ^2=16,5; p<0,001), при этом в 8,7 раза чаще – атипическая гиперплазия эндометрия (АГЭ) (7/19,4%), у каждой 3-й пациентки – ГПЭ (11/30,6%), у каждой 4-й – ПЭ (9/25%). Преобладала диффузная форма адено-

миоза (21/58,3%) в сочетании с НГЭ (9/25%) (χ^2=15,68; p<0,001; p^{bf}<0,001), ГПЭ (χ^2=18,8; p=0,003; p^{bf}=0,016; V=0,175), эпителиальными опухолями яичников (χ^2=36,8; p<0,001; p^{bf}<0,001; V=0,344) и ожирением (χ^2=5,09; p=0,023; V=0,120). Воспалительные изменения внутренних половых органов обнаружены в 7 (19,4%) случаях, эндоцервицит – в 12 (33,3%). Фоновые заболевания шейки матки (9/25%) являлись характерной особенностью у больных изолированным аденомиозом (χ^2=14,68; p<0,001; p^{bf}=0,003) и ассоциировались с выполнением ДЭК в анамнезе (χ^2=7,96; p=0,005; p^{bf}=0,014; V=0,195).

Группа больных с лейомиосаркомой матки (ЛМС) была представлена 29-ю пациентками в возрасте от 43 до 81 года, средний возраст больных составил 55,31±9,16 лет. Нарушения менструального цикла (1/3,4%), ВЗОМТ (4/13,8%), ГПЭ (2/6,9%), многократные аборты (3/10,3%) и ДЭК (7/19,2%) наблюдались в редких случаях у больных лейомиосаркомой. При этом пациентки в 6,3 раза чаще страдали сахарным диабетом (4/13,8%) (χ^2=11,73; p<0,001; p^{bf}=0,011) и 5,5 раза чаще – ожирением (11/37,9%) (χ^2=29,95; p<0,001; p^{bf}<0,001). На сегодняшний день унифицированный механизм повреждающего действия гипергликемии с развитием оксидативного стресса не подлежит сомнению (Пигарова Е.А., 2012; Gibault L., 2012; Allen M.M., 2015; Li A., 2017). Результатом чего и является активация PI3K-AKT-mTOR сигнального пути (фосфоинозитол-3-киназный путь), ответственного за рост ЛМС. Кроме того, в анамнезе у больных ЛМС наблюдалась значимо высокая частота пролиферативных заболеваний (χ^2=34,7; p<0,001; p^{bf}<0,001): фиброаденома молочной железы (1/3,4%), доброкачественная дисгормональная диффузная дисплазия молочных желез (ДДДДМЖ) (1/3,4%), невус (1/3,4%), рак почки (1/3,4%), рак молочной железы (1/3,4%). Миома матки в анамнезе установлена в каждом 3-м случае (10/34,5%), причем высокая частота сочетания миомы матки и ЛМС указывается многими авторами (Задонцева Н.С., 2002; Parikh P., 2015). В настоящее время доказано, что миома матки никогда не станет ЛМС по причине участия разных сигнальных путей. В случаях миомы матки активируется MAPK/ERK сигнальный путь (митоген активированный протеин киназный путь) (Zhang Q., 2014; Islam M.S., 2013, 2016). Таким образом, ЛМС всегда развивается «de novo». На наш взгляд, для больных с длительно существующей миомой матки критично присоединение сахарного диабета и ожирения, которые необходимо рассматривать факторами риска развития ЛМС.

Характерным симптомом ЛМС и ведущим поводом к операции являлось кровотечение в постменопаузе (13/44,8%) (χ^2=75,12; p<0,001; p^{bf}<0,001). Рост опухоли в перименопаузе отмечался в 5 (17,2%) случаях, при этом в 3-х

(10,3%) – после длительного наблюдения в женской консультации по поводу миомы матки малых размеров. У каждой 5-й больной (7/24,1%) наблюдался внезапный рост опухоли с неожиданной находкой ЛМС интраоперационно, причем в 1 (3,4%) случае – при удалении субмукозного узла.

Болевой синдром часто отсутствовал (15/51,7%), при его наличии был умеренный (12/41,3%) и редко – выраженный (2/6,9%). ЛМС чаще определялась больших (11/37,9%), реже гигантских (7/24,1%) и средних (7/24,1%) размеров. Единичные узлы преобладали (16/55,1%) и располагались интерстициально (14/48,3%), в редких случаях центрипетально (8/27,6%) и атипично (4/13,8%). ЛМС крайне редко была субмукозной (2/6,9%) и субсерозной (1/3,4%). Некрозы в узлах обнаруживались в 20,7 раза чаще (6/20,7%) (χ^2=17,08; p<0,001; p^{bf}=0,001) и ассоциировались с кровомазанием в постменопаузе (χ^2=32,88; p<0,001; p^{bf}<0,001; V=0,199). При патоморфологическом исследовании значимо реже (χ^2=6,73; p=0,01) наблюдалась ГПЭ (3/10,3%), крайне редко – АГЭ (1/3,4%) и ПЭ (2/6,9%). ЛМС сочеталась с диффузным аденомиозом в одном (3,4%) случае и с узловым – в 2-х (6,9%), несколько чаще – с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) (4/13,8%). Значимо чаще при ЛМС наблюдались опухоли яичников (12/41,3%) (χ^2=20,35; p<0,001): эпителиальные доброкачественные (5/17,2%), рак яичника (4/13,8%) в сочетании с раком маточной трубы (1/3,4%), редко – текома (1/3,4%) и фиброма (1/3,4%) яичника. Воспалительные изменения внутренних половых органов отсутствовали. Эндоцервицит установлен в 3-х (10,3%) случаях, дисплазия шейки матки – в 1 (3,4%) случае, в 2-х (6,9%) – рак шейки матки.

Таким образом, клинико-анамнестические данные и особенности преморбидного фона больных с различными пролиферативными заболеваниями матки имели характерные особенности, которые позволили разграничить факторы риска по их значимости и установить предикторы развития для каждого из вариантов.

Содержание белков семейства макроглобулинов и их иммунных комплексов с IgG, острофазных белков и интерлейкинов в сыворотке крови обследованных больных

Сывороточный уровень классического негативного реактанта воспаления МГ во всех группах больных определялся значимо низким, в сравнении с показателями здоровых женщин (p_1=0,0001; p_2=0,03; p_3=0,003; p_4=0,02; p_5=0,007; p_6=0,03) и сопоставимым между собой вне зависимости от характера пролиферативного процесса. Содержание АТ не имело значимых различий в группах сравнения (рис. 2).

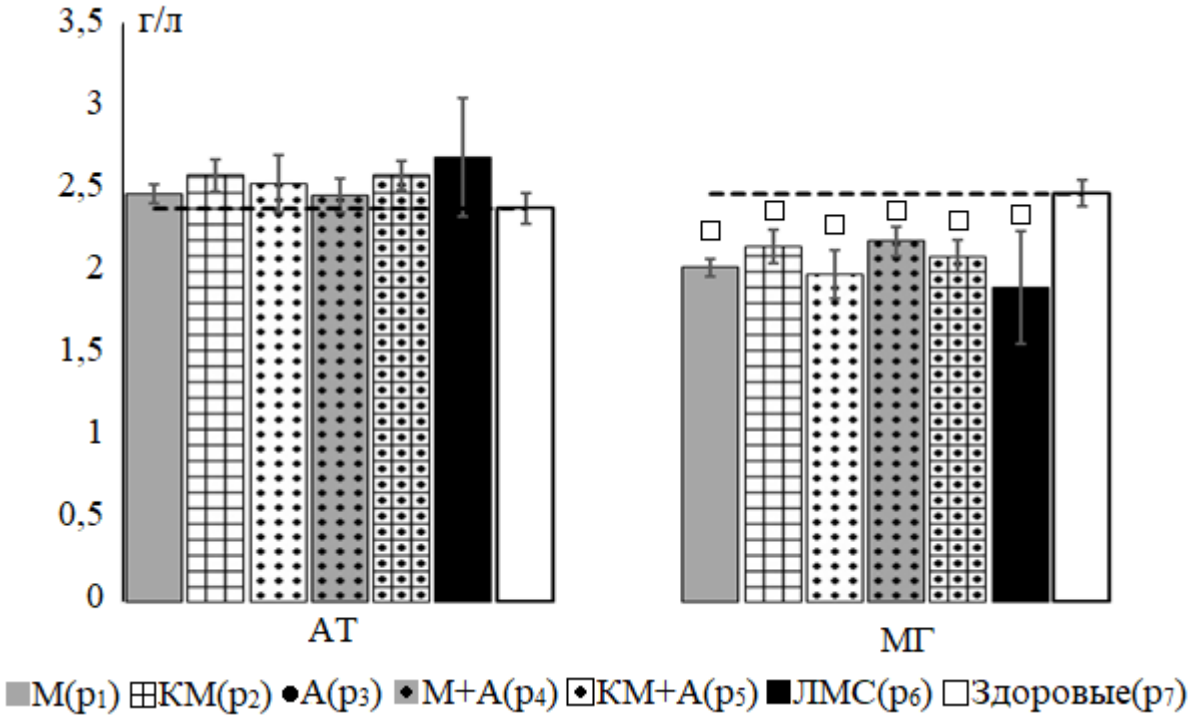


Рисунок 2 – Содержание АТ и МГ в сыворотке крови (г/л)

Содержание эстрогензависимого АБГ (Керемецкая Е.В., 2014, Wyatt A.R., 2016) не имело ожидаемых различий при эстрогенассоциированном изолированном аденомиозе и прогестеронзависимой миоме матки. Максимальными и значимо высокими, в сравнении с нормой, показатели АБГ установлены у больных с М+А (p_7=0,003) и гормонально независимой ЛМС (p_7<0,0001). На наш взгляд, увеличение уровня АБГ у больных со злокачественной опухолью миометрия и в случаях сочетания простой миомы с аденомиозом может свидетельствовать о иммуносупрессии. Тем более, что о выраженном иммуносупрессивном влиянии АБГ во время беременности хорошо известно и доказана его патогенетическая роль в развитии злокачественных новообразований яичников (Баженова Л.Г., 2007). Низкими показателями АБГ выделялись больные с КМ+А, при этом его уровень был сопоставим с таковым у больных М и значимо ниже сывороточных концентраций в других группах сравнения: p_2=0,005; p_3=0,017; p_4<0,0001; p_7=0,001 (рис. 3).

Содержание иммунных комплексов АБГ-IgG во всех группах больных определялось значимо выше показателей нормы: М p_7=0,002; КМ, М+А, А, КМ+А, ЛМС p_7<0,0001. При этом у больных М+А и ЛМС уровни АБГ-IgG были повышены в 2-2,5 раза и значимо отличались, в сравнении с показателями у больных с М p_4=0,01; p_6=0,03 и КМ p_4=0,02; p_6=0,03. Концентрация МГ-IgG во всех группах больных превышала показатели у здоровых женщин: p_1=0,04; p_2=0,002; p_3=0,01; p_4=0,0008; p_5<0,0001; p_6<0,0001, при этом у больных М+А и ЛМС отмечалось повышение уровня в 2,5-3 раза, в сравнении с нормой.

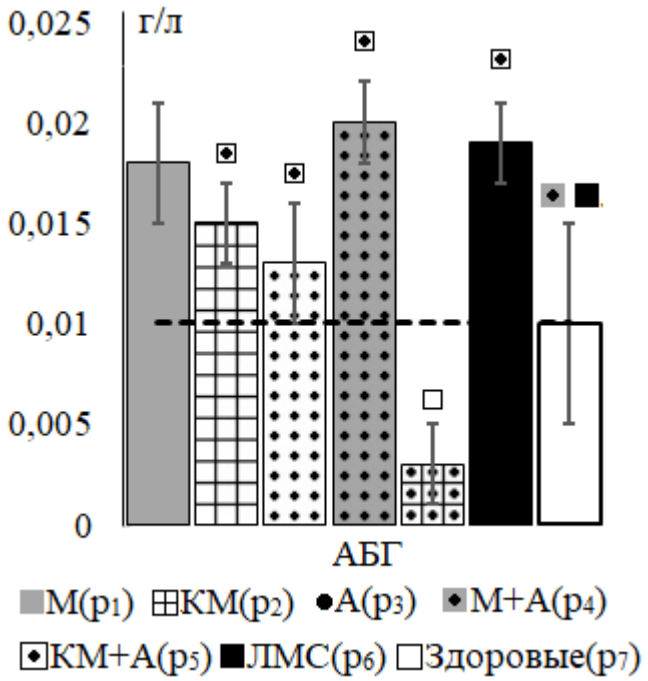


Рисунок 3 – Содержание АБГ в сыворотке крови (г/л)

Известно, что увеличение сывороточного содержания иммунных комплексов характерно для аутоиммунных заболеваний (Зорина В.Н., 2006). На наш взгляд, наличие повышенного уровня иммунных комплексов у больных с сочетанием миомы матки и аденомиоза, наряду с высокой частотой воспалительных изменений в удаленных органах и значимо высоким уровнем длительно существующих хронических воспалительных процессов в анамнезе, не случайно. Доказано, что в основе патогенеза хронического эндометрита лежит постинфекционный аутоиммунный синдром с повышением в сыворотке крови провоспалительных цитокинов и аутоантител к белкам эндометрия (Amsler L., 2013). Возможно, стоит рассматривать сочетание миомы и аденомиоза как вариант аутоиммунного воспаления и, в соответствии с этим, планировать лечебные мероприятия у такой категории больных.

Наименьший уровень МГ-IgG определялся у больных А, при этом он был сопоставим с таковым у больных М и ниже в сравнении с показателями у пациенток с сочетанием миомы и аденомиоза: p_3=0,02, p_5=0,03 (рис.4).

Содержание ЛФ во всех группах больных было значимо выше показателей нормы, при этом определялась устойчивая тенденция к увеличению содержания белка от изолированных форм заболеваний (в 1,3-1,7 раза) к сочетанным (в 2,1 раза), достигая максимума при ЛМС (в 2,6 раза) (рис. 5).

Исследование содержания провоспалительных цитокинов установило их гиперсекрецию: содержание ИЛ-8 повышалось в 10-40 раз, TNF-α – в 6-20 раз, VEGF – в 4-10 раз, ИЛ-6 – в 2-4 раза (рис. 6, 7, 8). При этом в большей степени прослеживалось повышение концентрации ИЛ-8 и в меньшей – ИЛ-6.

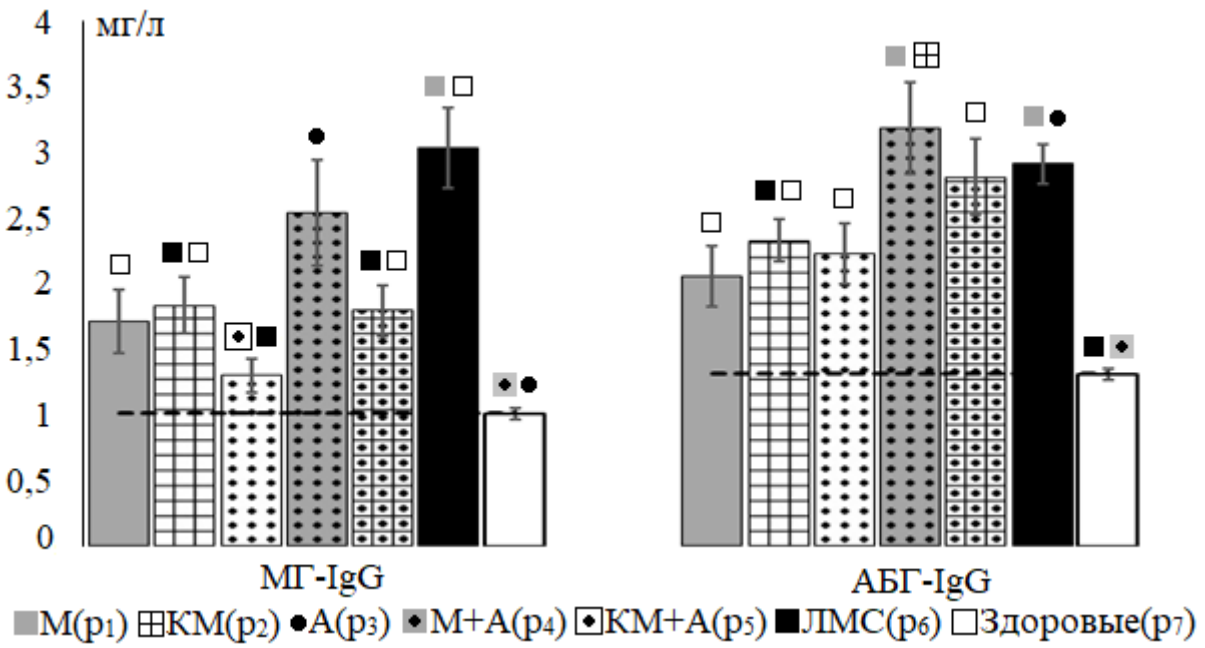
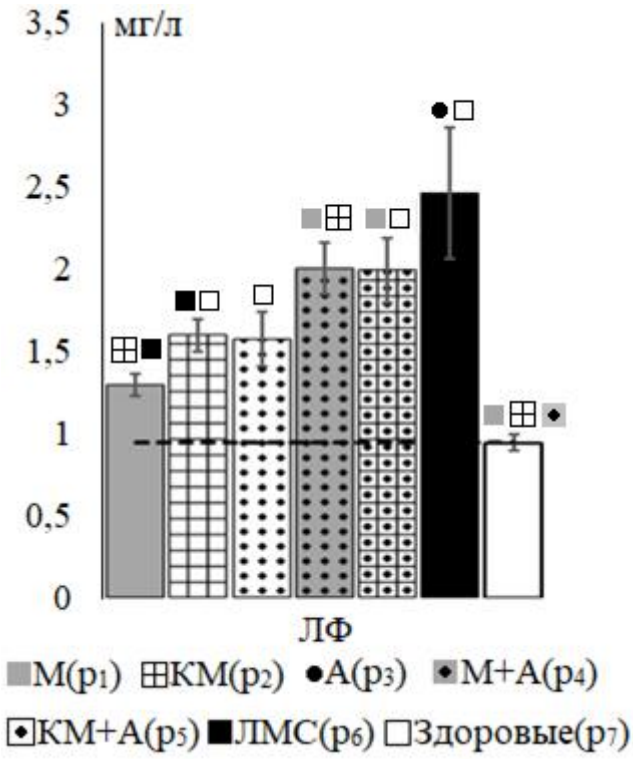


Рисунок 4 – Содержание иммунных комплексов МГ-IgG и АБГ-IgG в сыворотке крови (мг/л)



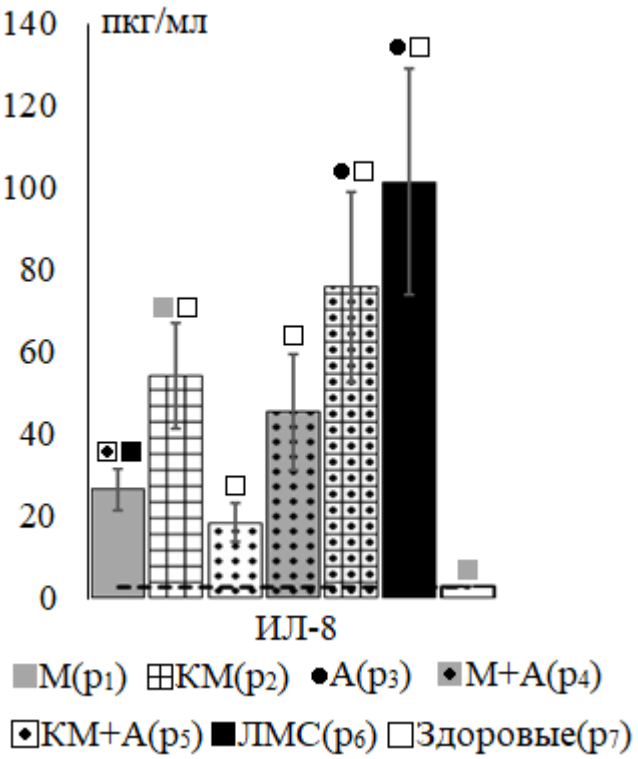


Рисунок 5 – Содержание ЛФ (мг/л) в сыворотке крови

Рисунок 6 – Содержание ИЛ-8 (пкг/мл) в сыворотке крови

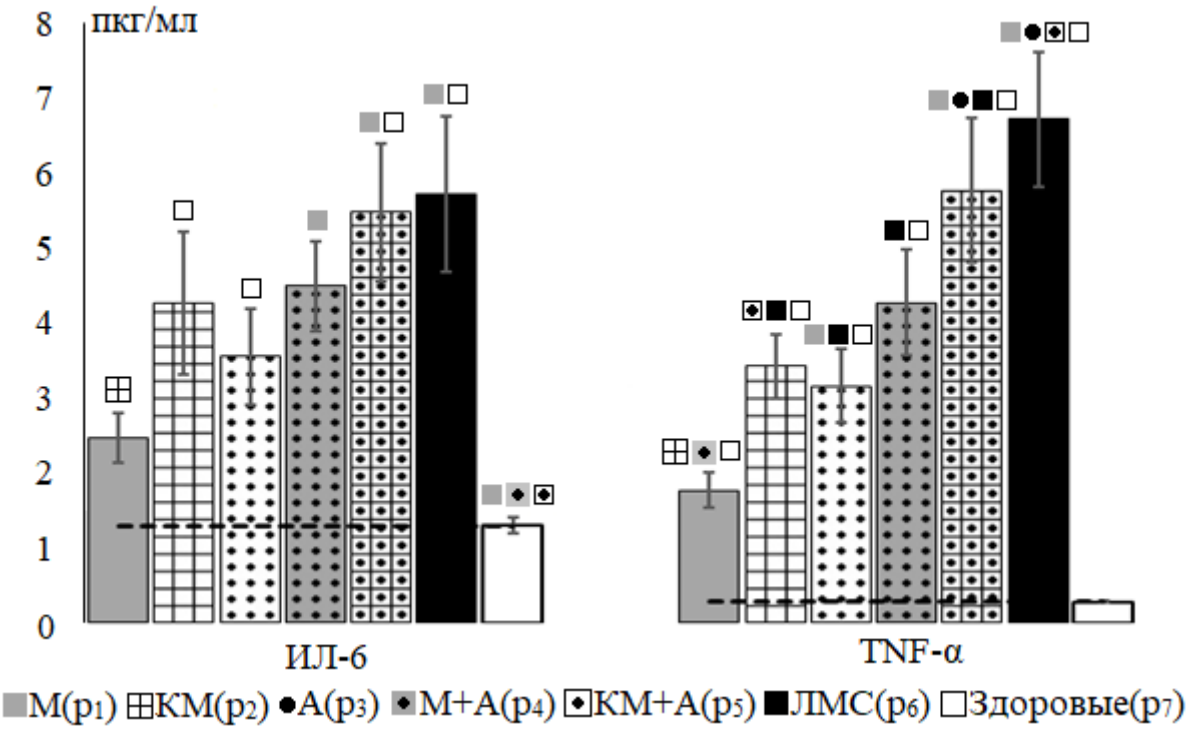


Рисунок 7 – Содержание ИЛ-6 и FNO-α в сыворотке крови (пкг/мл)

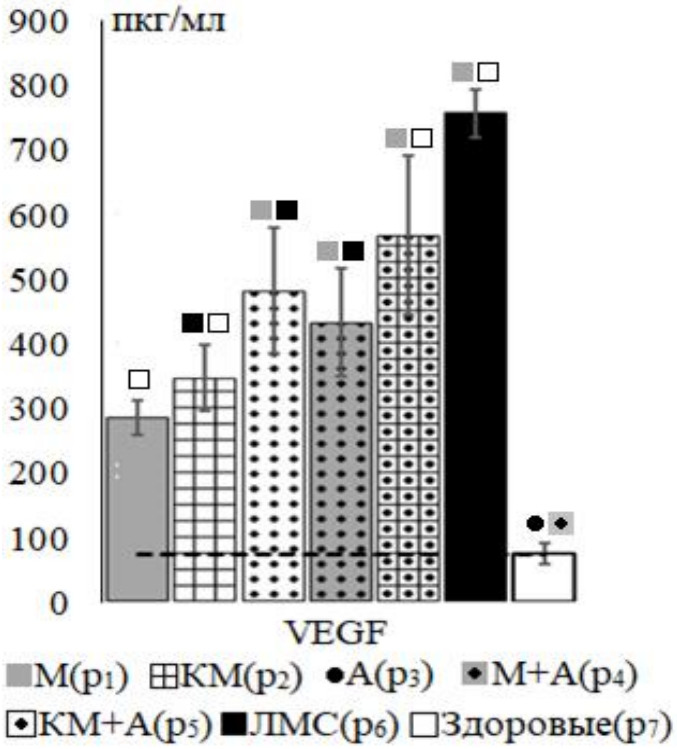


Рисунок 8 – Содержание VEGF (пкг/мл) в сыворотке крови

Такие изменения острофазовых реактантов отражают типичную воспалительную реакцию, причем степень выраженности воспалительной реакции нарастала от изолированных заболеваний (М, КМ, А) к сочетанным (М+А, КМ+А), достигая пика при ЛМС. Максимально высокие показатели маркеров

воспалительной реакции в случаях ЛМС скорее свидетельствуют о наличии оксидативного стресса, обусловленного гипергликемией и ожирением с гиперпродукцией супероксидных радикалов и дисфункцией митохондрий, что можно рассматривать в качестве повреждающих факторов (Пигарова Е.А., 2012), тем более что клинико-морфологические данные больных ЛМС свидетельствуют об отсутствии воспалительных изменений в органах. В свою очередь, выраженная реакция острофазовых показателей при сочетании миомы матки и аденомиоза обусловлена воспалительными агентами, что имеет патоморфологическое и анамнестическое подтверждение – значимо высокий уровень воспалительных процессов в анамнезе и в удаленных органах. Низкий уровень воспалительных заболеваний в анамнезе, имеющий патоморфологическое подтверждение у больных с изолированной миомой, наряду с минимально повышенными сывороточными маркерами воспаления, позволяет выдвигать на роль повреждающих факторов, у мало рожающих женщин ежемесячную менструальную ишемию и гипоксию с бесконечными преобразованиями миометрия «вхолостую» (Киселев В.И., 2010). В свою очередь, при изолированном аденомиозе повреждающими механизмами выступают: локальная гиперэстрогения и механическая травма. Что вполне логично, и совпадает с данными литературы (Стрижаков А.Н., 2014; Оразов М.Р., 2016).

Таким образом, сравнительное изучение острофазовых показателей, провоспалительных цитокинов и белков семейства макроглобулинов, наряду с анализом клинико-анамнестических данных и преморбидного фона, позволяет рассматривать миому матки, аденомиоз, их сочетание и лейомиосаркому различными типами реагирования женского организма в ответ на повреждение органа-мишени – матки. При этом гипоксия и ишемия выступают в качестве повреждающих факторов при изолированной миоме (часто менструирующие женщины), механическая травма и гиперэстрогения – при изолированном аденомиозе, воспалительные агенты и механическая травма на фоне иммуносупрессии и соединительнотканной недостаточности – при сочетании миомы матки и аденомиоза, гипергликемия и оксидативый стресс – при лейомиосаркоме. Причем особенности реагирования каждой женщины предсказать сложно, поэтому прогнозировать течение заболевания, в том числе на фоне лечения, представляется трудной задачей (Лукач А.А., 2010), что и требует персонализации лечебной тактики.

Сывороточный уровень эстрадиола и прогестерона не имел значимых различий в группах больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки, как доброкачественных, так и злокачественной гладкомышечной опухоли матки, и был сопоставим с таковым у здоровых женщин (рис. 9, 10).

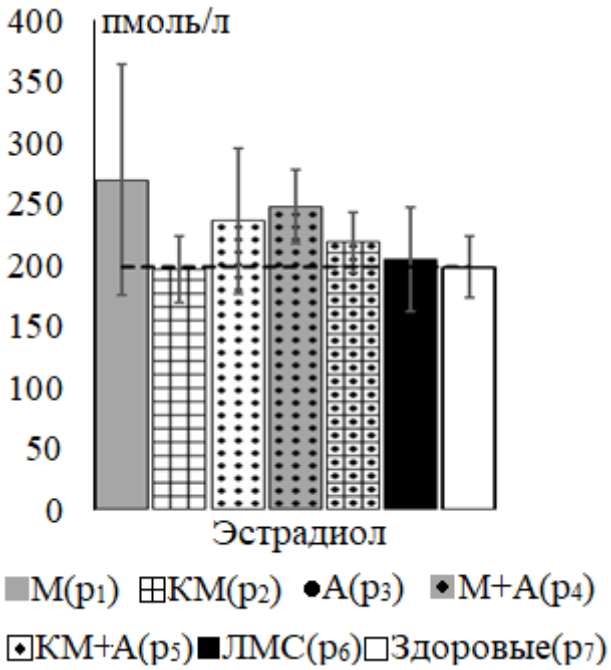


Рисунок 9 - Содержание эстрадиола (E_2) пмоль/л в сыворотке крови

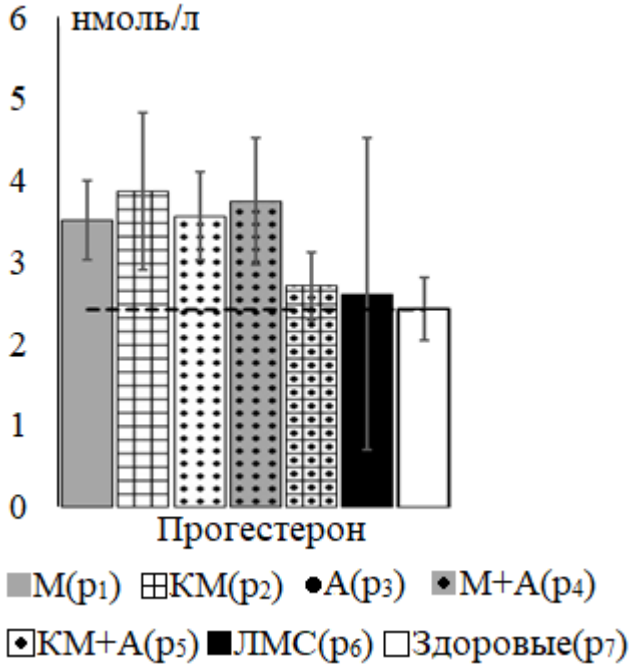


Рисунок 10 - Содержание прогестерона нмоль/л в сыворотке крови

Многими авторами подчеркивается широкая вариабельность сывороточных уровней половых гормонов, как у больных, так и у здоровых женщин. Отсутствие значимых различий содержания стероидных половых гормонов в сыворотке крови позволяет относиться к пролиферативным заболеваниям матки как к локальному процессу в миометрии (Сидорова И.С., 2007; Савицкий Г.А., 2009), тем более что на сегодняшний день доказана возможность непосредственного синтеза, захвата и метаболизма половых гормонов в миоматозных узлах. Понимание того, что в основе всех биохимических и биологических «технологий» лежат информационные процессы, а клеточный метаболизм контролируют гены, побудило нас к следующему этапу исследования, а именно – изучению генов рецепторов половых стероидных гормонов непосредственно в матке.

Профиль экспрессии генов рецепторов половых стероидных гормонов в тканях матки

В группах с изолированной миомой, как простой, так и клеточной, уровень экспрессии генов рецепторов половых стероидных гормонов (*ERα, ERβ, PGR*) в миоматозных узлах и окружающем миометрии был сопоставим. В очагах аденомиоза уровни экспрессии изучаемых генов определялись значимо высокими, в сравнении с таковыми в окружающем миометрии, как при изолированном варианте (p_{my}<0,0001; p_{my}=0,01; p_{my}=0,0004), так и в группе больных с сочетанием миомы матки и аденомиоза (p_{my}=0,005; p_{my}=0,01; p_{my}=0,02), несмотря на наличие

признаков гиперплазии миометрия вокруг очагов аденомиоза (рис. 11, 12, 13). Возможно, это свидетельствует о мозаичном выпадении экспрессии рецепторов к половым стероидам в миометрии у больных аденомиозом (Оразов М.Р., 2015).

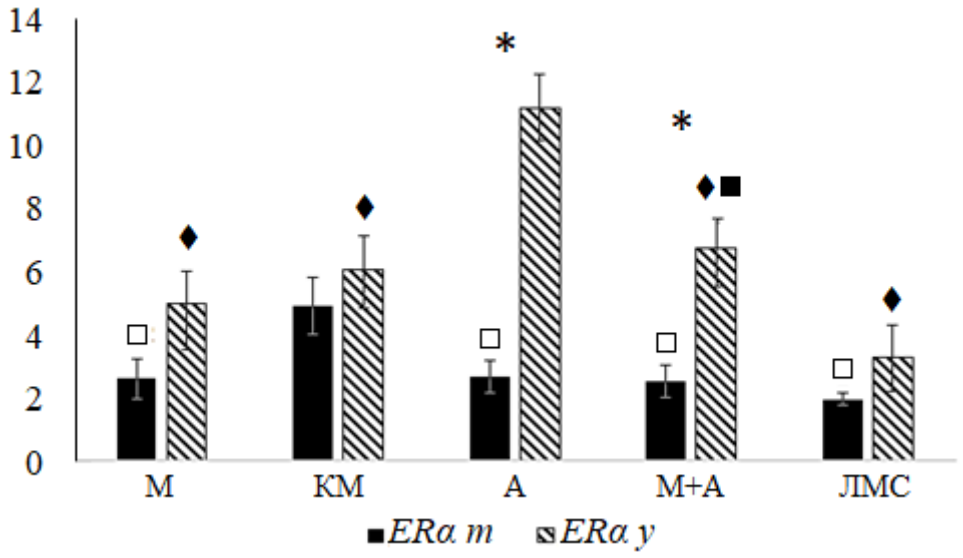


Рисунок 11 - Показатели экспрессии генов *ERα* в окружающем миометрии (m) и узлах (y) обследованных больных.

Примечание к рисункам 11-16.:
□ – статистически значимые различия с группой М;
□ – статистически значимые различия с группой КМ;
♦ – статистически значимые различия с группой А;
■ – статистически значимые различия с группой ЛМС;
* – статистически значимые различия в миометрии и узле.
По оси Y – отношение содержания мРНК в узлах к содержанию в окружающей ткани (разы).

Значимо высоким уровнем экспрессии гена *ERα* выделялся окружающий миометрий КМ, в сравнении с показателями в остальных группах обследованных: М (p=0,04), М+А (p=0,03), А (p=0,03), ЛМС (p=0,006) (рис. 11). На наш взгляд, это может иметь важное патогенетическое значение, определяя темп роста и склонность к рецидивированию клеточных узлов. Известно, что эстрадиол опосредованно индуцирует экспрессию PGR, увеличивает их биологическую доступность, повышает чувствительность тканей к прогестерону. Учитывая этот факт, максимально высокая экспрессия гена *ERα* в окружающем миометрии и узлах больных КМ закономерно должна реализоваться и чрезмерной стимуляцией генов *PGR* с выраженной гиперплазией и гипертрофией миометрия, что и было нами установлено. Высоким уровнем экспрессии генов *PGR* в узлах характеризовалась именно КМ (рис. 13). В связи с этим, возможно, есть смысл противорецидивные мероприятия в послеоперационном периоде у больных с КМ начинать с антиэстрогенной терапии, что изначально позволит предотвратить чрезмерную экспрессию прогестероновых рецепторов.

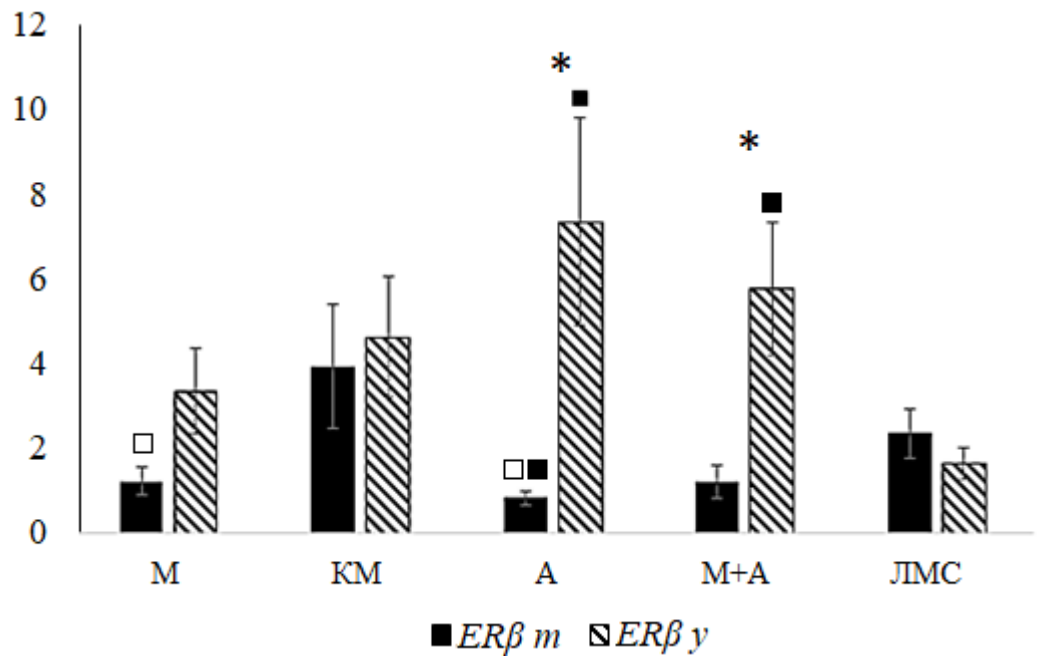


Рисунок 12 - Показатели экспрессии генов *ERβ* в окружающем миометрии (m) и узлах (y) обследованных больных

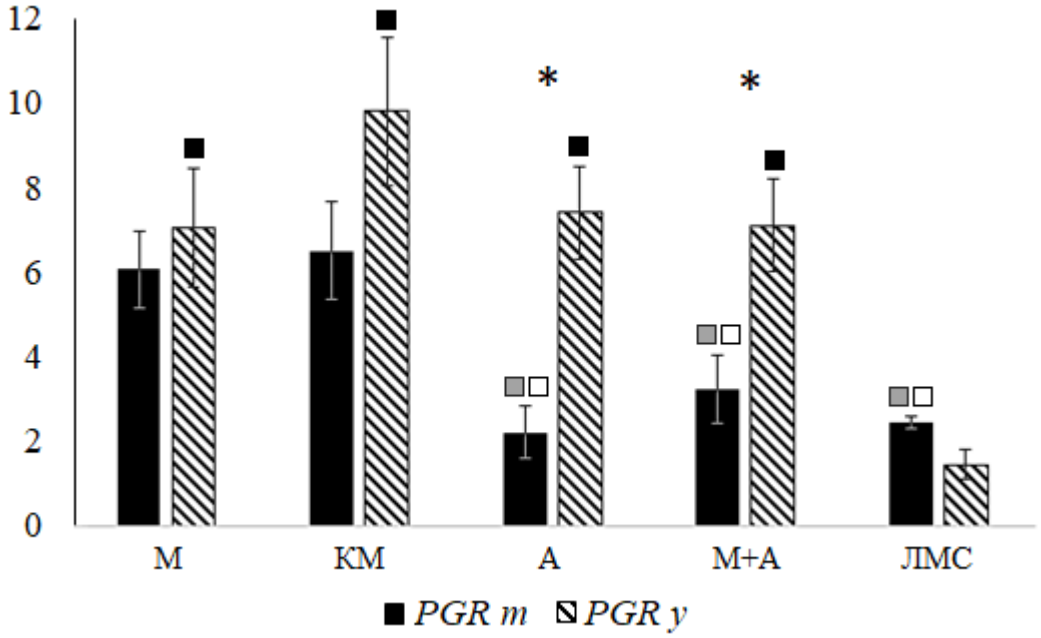


Рисунок 13 - Показатели экспрессии генов *PGR* в окружающем миометрии (m) и узлах (y) обследованных больных

Уровень экспрессии гена *ERβ* в миометрии был также повышенным у больных КМ, при этом значимость различий нами установлена только в сравнении с показателями больных М (p=0,04) и А (p=0,03). Наименьшие показатели экспрессии *ERβ* в окружающем миометрии были у пациенток с А, но статистическая значимость нами установлена только в сравнении с показателями экспрессии у больных с ЛМС (p=0,01) (рис. 12).

В свою очередь, в узловых образованиях максимальные и значимо высокие показатели экспрессии гена *ERα* установлены в очагах изолированного аденомиоза (М p=0,002; КМ p=0,004; М+А p=0,01; ЛМС p<0,0001), а в ткани ЛМС уровень экспрессии гена определялся минимальным, как и показатели экспрессии гена *ERβ* установлены наименьшими: А (p=0,04) и М+А (p=0,02) (рис. 11, 12). В настоящее время известно о существовании взаимосвязи между прогестероном и эстрогенами, которая критична для нормального функционирования матки и баланса систем прогестерон/PGR и эстроген/ER. Нарушение таких взаимоотношений закономерно реализуется патологическими состояниями (Ishikawa H., 2010). В нашем исследовании высокая экспрессия гена *ERα* в узлах аденомиоза не сопровождалась повышением экспрессии генов *PGR,* как мы это наблюдали в случаях изолированной миомы. При эндометриозе локальная гиперэстогения, призванная экспрессировать прогестероновые рецепторы (PGR), не срабатывает – PGR «молчат» (Bulun S.E., 2010, 2015). Возможно, причинами недостаточной экспрессии PGR является повреждение генов *PGR*. Но если рассматривать эндометрий и миометрий с позиции специфичности тканей (Печенникова В.А., 2012), то и реакция на эстрогеновую стимуляцию должна разниться, что и наблюдается при аденомиозе.

Уровень экспрессии генов *PGR* в окружающем миометрии у больных КМ определялся высоким, при этом значимо, в сравнении с таковым у больных с М+А (p=0,03), А (p=0,003) и ЛМС (p=0,003). У больных М экспрессия генов *PGR* в миометрии была значимо выше в сравнении с таковыми в группе больных с А (p=0,002), М+А (p=0,03) и ЛМС (p=0,003) (рис. 13).

Высоким уровнем экспрессии генов *PGR* в узлах характеризовались КМ, но значимость различий установлена лишь с показателями больных ЛМС (p=0,0003), где уровень экспрессии был ниже в сравнении с другими: М (p=0,004); М+А и А (p=0,0001) (рис. 13).

Известно, что в основе пролиферативных заболеваний лежит нарушение соотношения между эстрогенами, прогестероном и их рецепцией (Ishikawa H., 2010). Равный уровень экспрессии генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в узлах при сочетании миомы матки и аденомиоза свидетельствует о наличии баланса в их взаимоотношениях. Поэтому можно думать о переключении механизмов регуляции роста миомы при сочетании с аденомиозом с гормональных на провоспалительные, когда активируется PI3K-AKT-mTOR сигнальный путь агентами воспаления. Такая возможность, в случаях сочетанных заболеваний, указывается некоторыми авторами при импликации MAPK/ERK и PI3K-AKT-mTOR сигнальных путей в распространении воздействия на стволовые клетки (Makker A.L., 2012; Streuli I., 2015), что способствует появлению ге-

терогенных популяций (Давыдов Д.А., 2016). Это можно рассматривать одной из причин сложного медикаментозного и хирургического управления сочетанными формами заболеваний.

Таким образом, в узловых образованиях изолированной миомы матки, как простой, так и клеточной, нами установлено преобладание экспрессии генов прогестероновых рецепторов над эстрогеновыми. В очагах изолированного аденомиоза, напротив, экспрессия генов эстрогеновых рецепторов доминировала над прогестероновыми. При сочетании миомы матки и аденомиоза экспрессия генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов определялась на одном уровне. В тканях лейомиосаркомы экспрессия генов рецепторов к стероидным половым гормонам установлена крайне низкой, что подтверждает её гормональную независимость (Cui R.R., 2017) (рис. 14).

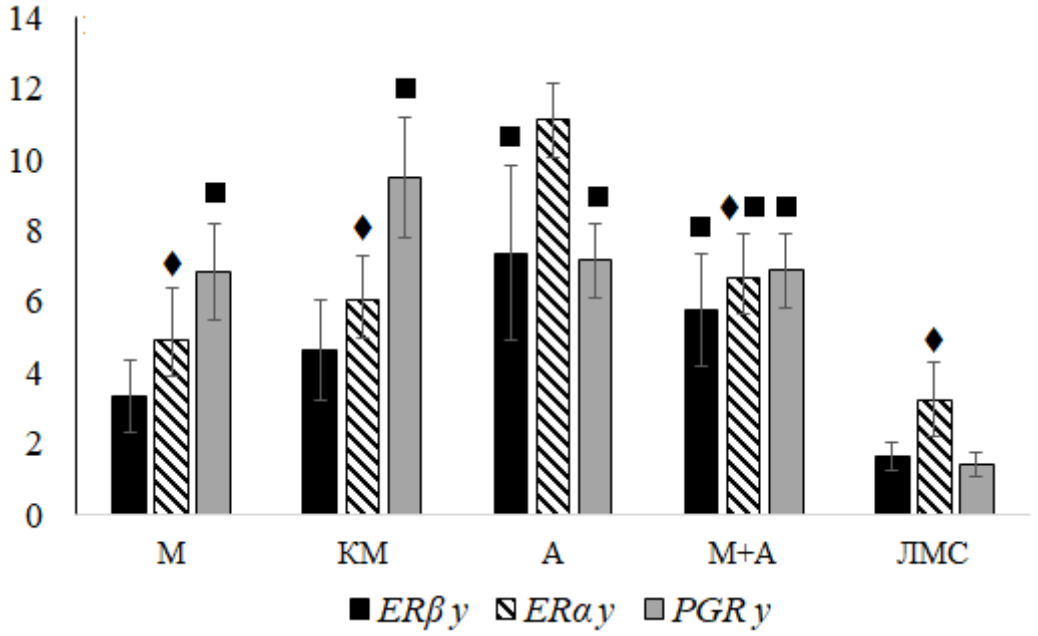


Рисунок 14 - Соотношение показателей экспрессии генов *Er* и *PR* в узлах (у)

Экспрессия гена опухолевого супрессора *PTEN* в тканях матки (патологических узловых образованиях и окружающем миометрии)

Следующим этапом нашего исследования явилось изучение гена опухолевого супрессора *PTEN* – антагониста фосфоинозитол-3-киназного пути сигнализации (PI3K), способного терминировать PI3K-AKT-mTOR сигнальный путь, индуцируя апоптоз и останавливая клеточное деление. Известно, что потеря активности *PTEN* способствует усилению пролиферативных процессов (Cully M., 2006). Оказалось, что в окружающем миометрии у больных с М показатели экспрессии гена *PTEN* определялись значимо выше в сравнении с уров-

нем экспрессии при М+А (p=0,0009), А (p=0,0004) и ЛМС (p=0,01). Максимально высокий уровень экспрессии гена *PTEN* в миометрии был у больных КМ, значимо выше по сравнению с показателями М+А (p=0,0007), ЛМС (p=0,0005) и А (p=0,02). В узлах КМ экспрессия гена *PTEN* сохраняла наивысшие позиции и значимые различия в сравнении с сопоставимыми между собой показателями у больных ЛМС (p=0,0005), А и М+А (p=0,0002) (рис. 15).

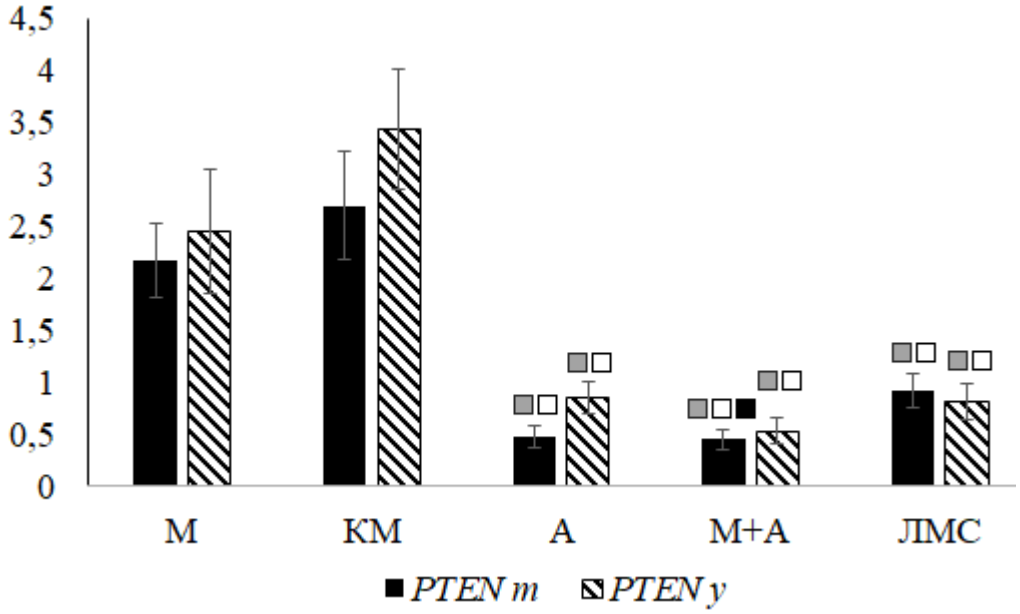


Рисунок 15 - Показатели экспрессии гена *PTEN* в окружающем миометрии (m) и узлах (y)

Низкая экспрессия гена опухолевого супрессора *PTEN* в тканях ЛМС вполне ожидаема. Известно, что ген *PTEN* опосредует действие инсулина, это определяет наличие генетической связи сахарного диабета 2-го типа и онкологических заболеваний (Пигарова Е.А., 2012; Li A., 2017). Низкий уровень экспрессии гена *PTEN* в тканях изолированного аденомиоза и при сочетании с миомой матки позволяет считать риск злокачественной трансформации аденомиоза реальным (Унанян А.Л., 2012; Дамиров М.М., 2015). Напротив, у больных изолированной миомой высокая экспрессия гена *PTEN* свидетельствует об отсутствии такого риска.

Молекулярно-биологические показатели антиапоптотической активности (Bcl-2) и пролиферативной клеточной активности (Ki-67)

Так как одним из важнейших путей, регулирующих пролиферацию мезенхимальных клеток, метаболизм и выживание клетки по нескольким механизмам, в том числе ингибируя проапоптотические белки семейства Bcl-2, является PI3K сигнализация (Opel D., 2011), а супрессор PTEN терминирует этот путь, мы сочли важным изучить соотношение процессов пролиферации и апоптоза.

Уровень экспрессии антител к белку с антиапоптотической активностью Bcl-2, определялся повышенным в простых миоматозных узлах, что свидетельствует о подавлении апоптоза как доказанного механизма увеличения узлов в объеме и роста миомы матки. Это подтверждает ключевую роль прогестерона в патогенезе миомы матки, а именно: антиапоптотического воздействия прогестерона, увеличивающего экспрессию белков семейства Bcl-2 (Вихляева Е.М., 2004; Доброхотова Ю.Э., 2013; Лазарев А.Ф., 2015). Мы не увидели противоречия в наличии высокой экспрессии гена *PTEN* при изолированной миоме, призванного индуцировать апоптоз наряду с высокой экспрессией антител к Bcl-2, свидетельствующей о подавлении апоптоза – ведущего механизма роста миомы матки. Напротив, это служит еще одним подтверждением основной роли в механизмах роста изолированной миомы MAPK/ERK сигнального пути, активируемого прогестероном. В то время, как PI3K-AKT-mTOR сигнальный путь у больных изолированной миомой угнетен высокой экспрессией гена *PTEN*, что и не позволяет ему участвовать в регуляции роста миомы матки и исключает малигнизацию (Islam M. S., 2013; 2016).

Значимо высокие показатели окрашивания антител к Bcl-2 установлены в узловых образованиях изолированного аденомиоза, в сравнении с сопоставимыми между собой значениями в остальных группах обследованных: М ($p = 0,018$), КМ ($p = 0,0002$), М+А ($p = 0,0003$), ЛМС ($p = 0,014$). Это также свидетельствует о ведущей роли угнетения апоптоза в механизмах прогрессирования аденомиоза (Кулаков В.И., 2006).

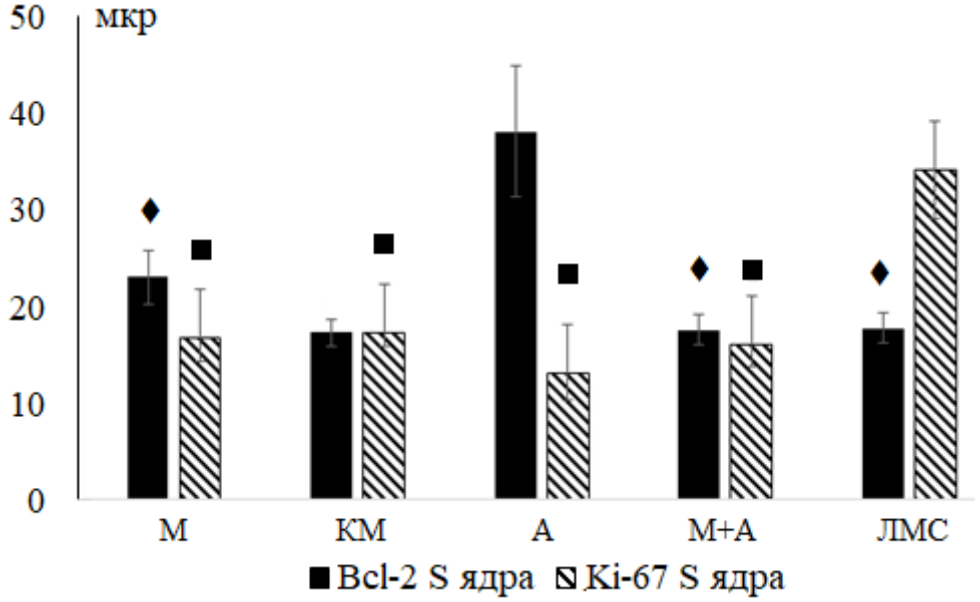


Рисунок 16 - Молекулярно-биологические показатели антиапоптотической активности (Bcl-2) и пролиферативной активности (Ki-67) в группах обследованных больных (мкр)

Экспрессия антител к маркеру пролиферативной клеточной активности (Ki-67) установлена значимо высокой в тканях лейомиосаркомы по сравнению с сопоставимыми значениями в группах обследованных: М (p = 0,001), КМ (p< 0,0001), М+А (p = 0,0008), А (p = 0,0018) (рис. 16), что закономерно, потому как злокачественная прогрессия традиционно связана с безудержной клеточной пролиферацией (Stănescu A.D., 2014). В свою очередь, в узлах клеточной миомы и при сочетании миомы матки и аденомиоза экспрессия антител к Ki-67 и Bcl-2 определялась равнозначной, что трудно объяснить с позиции соотношения процессов пролиферации и апоптоза. Возможно, рост клеточных узлов и узлов миомы, ассоциированных с аденомиозом, имеет сложную природу, которая не укладывается в общепризнанные представления регуляции клеточного роста. Это можно рассматривать одной из причин неэффективности медикаментозного и хирургического лечения данных заболеваний (Сидорова И.С., 2013; Дамиров М.М. 2015; Stewart E.A., 2017).

ПРОГНОЗ ТЕЧЕНИЯ И ТАКТИКА ВЕДЕНИЯ

Нами предложен тактический алгоритм ведения больных с пролиферативными заболеваниями матки (рис. 17), основанный на определении вероятности развития аденомиоза у больных с миомой матки, клеточного морфотипа узла и лейомиосаркомы матки с использованием шкал балльной оценки риска. С целью разработки системы балльных шкал нами построены модели различных вариантов заболеваний. На первом этапе выполнялся отбор переменных для включения в модель. Число входных переменных зависело от объема выборки и соотношения случаев «с наличием признака» и «без данного признака». Непосредственно входные переменные отбирались на основе оценки статистической значимости (pg) индекса Джини (G) – показателя степени влияния переменной на результат, который был получен с помощью ансамбля классифицирующих правил (Random Forest). На основе выявленных факторов риска строилась прогнозирующая модель. Вся выборка была разделена на обучающую и тестовую. На обучающей выборке определялись параметры и коэффициенты модели, а на тестовой осуществлялась проверка качества. Как правило, соотношение обучающей и тестовой выборки составляло 8:2. Разделение на выборки проводилось методом рандомизации.

В качестве метода моделирования выбрана логистическая регрессия – метод принудительного включения. Выбор метода объясняется необходимостью оценки вклада каждого фактора в прогнозируемый эффект и дихотомической

шкалой измерения выходной величины. Оценка параметров модели проводилась на обучающем множестве. Результаты моделирования представлены оценками коэффициентов (b), статистической значимостью входных переменных (pw), оцененной с помощью теста Вальда (W).

На основе полученных регрессионных коэффициентов были рассчитаны скрининговые баллы (Bsk), которые предполагается использовать для расчета индивидуального прогноза. Для каждой конкретной женщины определяется наличие приведенных в таблице факторов риска. За каждый обнаруженный фактор присваивается соответствующий ему балл и определяется сумма всех присвоенных баллов. Если эта сумма выше критического порога, то с высокой долей вероятности у пациентки прогнозируется развитие рассматриваемого признака.

Критический балл находился с помощью ROC-анализа и расчета J-статистики Юдена. В случае прогноза аденомиоза критический балл равен 100 (J=0,68). Таким образом, если сумма баллов по всем факторам риска, которые выявлены у женщины, составляет 99 баллов и выше, то определялась высокая вероятность (85%) развития аденомиоза у больной с миомой матки (табл. 1).

Таблица 1 - Параметры модели прогноза развития аденомиоза у женщин с миомой матки

Факторы	G	pg	B	W	pw	Bsk
Сопутствующая гиперплазия эндометрия	3,29	0,010	1,47	8,49	0,004	15
Хронические воспалительные заболевания шейки матки	3,75	0,010	0,68	4,01	0,045	7
Гиперполименорея	2,24	0,010	1,62	4,54	0,033	16
Наличие родов	3,66	0,010	2,19	9,96	0,002	22
Патология эндометрия в анамнезе	9,09	0,010	2,47	23,50	0,000	25
Варикозная болезнь нижних конечностей	4,79	0,010	2,08	11,72	0,001	21
Аппендэктомия в анамнезе	2,50	0,010	1,37	4,30	0,038	14
ЛФ более 1,18 мг/мл	2,98	0,010	1,38	4,12	0,042	14
ИЛ-6 более 2,8 пг/мл	1,51	0,020	1,02	3,72	0,054	10
Возраст 43 года и старше	3,39	0,010	0,82	3,78	0,052	8
Константа	-	-	-9,18	26,35	0,001	10

При клеточной миоме оптимальной пороговой точкой отсечения, найденной с помощью J-статистики Юдена, является точка 21 (0,479). Таким образом, если сумма баллов по всем факторам риска, которые выявлены у женщины, составляет 20 баллов и выше, то с вероятностью не менее 70% миома у неё будет клеточной (табл. 2).

Оптимальной пороговой точкой отсечения при прогнозе ЛМС, найденной с помощью J-статистики Юдена, является точка 7 (0,72). Таким образом, если сумма баллов по всем факторам риска, которые выявлены у женщины, составляет 7 баллов и выше, то с достаточно высокой долей вероятности (выше 80%) у неё будет лейомиосаркома (табл. 3).

Таблица 2 - Параметры модели прогноза клеточной миомы

Факторы	G	pg	B	W	pw	Bsk
Аборт в анамнезе	0,85	0,039	0,78	3,87	0,046	8
Операция на матке в анамнезе	1,81	0,002	1,20	4,30	0,038	12
Отсутствие родов в анамнезе	0,81	0,047	0,50	4,89	0,027	5
Сочетание нарушения кровоснабжения в узле и атипического расположения узлов	1,31	0,001	0,83	3,94	0,047	8
Сочетание нарушения кровоснабжения в узле и уровня АБГ менее 0,017 г/л	2,12	0,001	1,49	15,44	0,000	15
Сочетание нарушения кровоснабжения в узле и уровня ИЛ-6 более 3,9 г/л	2,40	0,001	2,10	5,83	0,016	21
Наличие выскабливаний стенок полости матки в анамнезе при отсутствии аденомиоза	1,14	0,029	0,98	7,91	0,005	10
Наличие заболеваний щитовидной железы при отсутствии сопутствующей гиперплазии эндометрия	0,92	0,029	1,08	4,59	0,032	11
Константа	0,85	0,039	-2,78	32,54	0,000	0

Таблица 3 - Параметры модели прогноза развития лейомиосаркомы матки

Факторы	G	pg	B	W	pw	Bsk
Возраст 50 лет и старше	2,63	0,002	1,90	4,74	0,029	3
Наружный генитальный эндометриоз	2,47	0,001	2,20	5,44	0,020	3
Кровотечение в постменопаузе	1,88	0,001	2,57	6,55	0,010	4
Миома матки в анамнезе	2,49	0,001	4,15	10,75	0,001	6
Сахарный диабет	0,77	0,022	2,36	3,99	0,046	3
Константа	-	-	-3,17	24,8	<0,001	

Общая оценка согласия модели и реальных данных оценивалась с использованием теста Хосмера - Лемешева (χ2HL). В качестве критерия, определяющего возможность классификации с помощью построенной модели, использовался критерий Колмогорова - Смирнова для двух выборок (D). Качество модели оценивалось с помощью ROC-кривой (AUC) на обучающей и на тестовой выборке. На тестовой выборке оценивалась точность прогноза, чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результата (табл. 4).

Таблица 4 - Чувствительность, специфичность и прогностическая ценность моделей

Показатели качества	Модели прогноза		
	аденомиоза	клеточной миомы	лейомиосаркомы
на обучающей			
N	229	234	95
Кол-во переменных	10	8	5
AUC	0,92	0,79	0,92
χ2HL (p)	4,86 (0,722)	5,18 (0,520)	1,51 (0,680)
D (p)	0,67 (0,013)	1,50 (0,022)	0,7 (0,041)
на тестовой			
N	55	50	26
AUC	0,94	0,72	0,93
Точность	91[80-97]% (50/55)	78[64-89]% (39/50)	92[75-99]% (24/26)
Чувствительность	90[70-99]% (17/19)	76[51-93]% (13/17)	80[28-100]% (4/5)
Специфичность	92[78-98]% (33/36)	79[61-91]% (26/33)	95[76-100]% (21/20)
Ценность «+»	85[62-97]% (17/20)	65[41-85]% (13/20)	80[28-100]% (4/5)
Ценность «-»	94[91-99]% (33/35)	87[69-96]% (26/30)	95[76-100]% (21/20)

Анализ качества моделирования показал, что полученные с помощью модели и реальные данные статистически значимо не различались (тест Хосмера - Лемешева статистически не значим). Кумулятивные распределения вероятностей статистически различаются, то есть модели обладают классифицирующей способностью (тест Колмогорова - Смирнова статистически значим). Качество моделей, оцениваемое по показателю AUC, характеризуется как отличное для моделей прогноза аденомиоза и лейомиосаркомы и хорошее – для модели прогноза развития клеточной миомы.

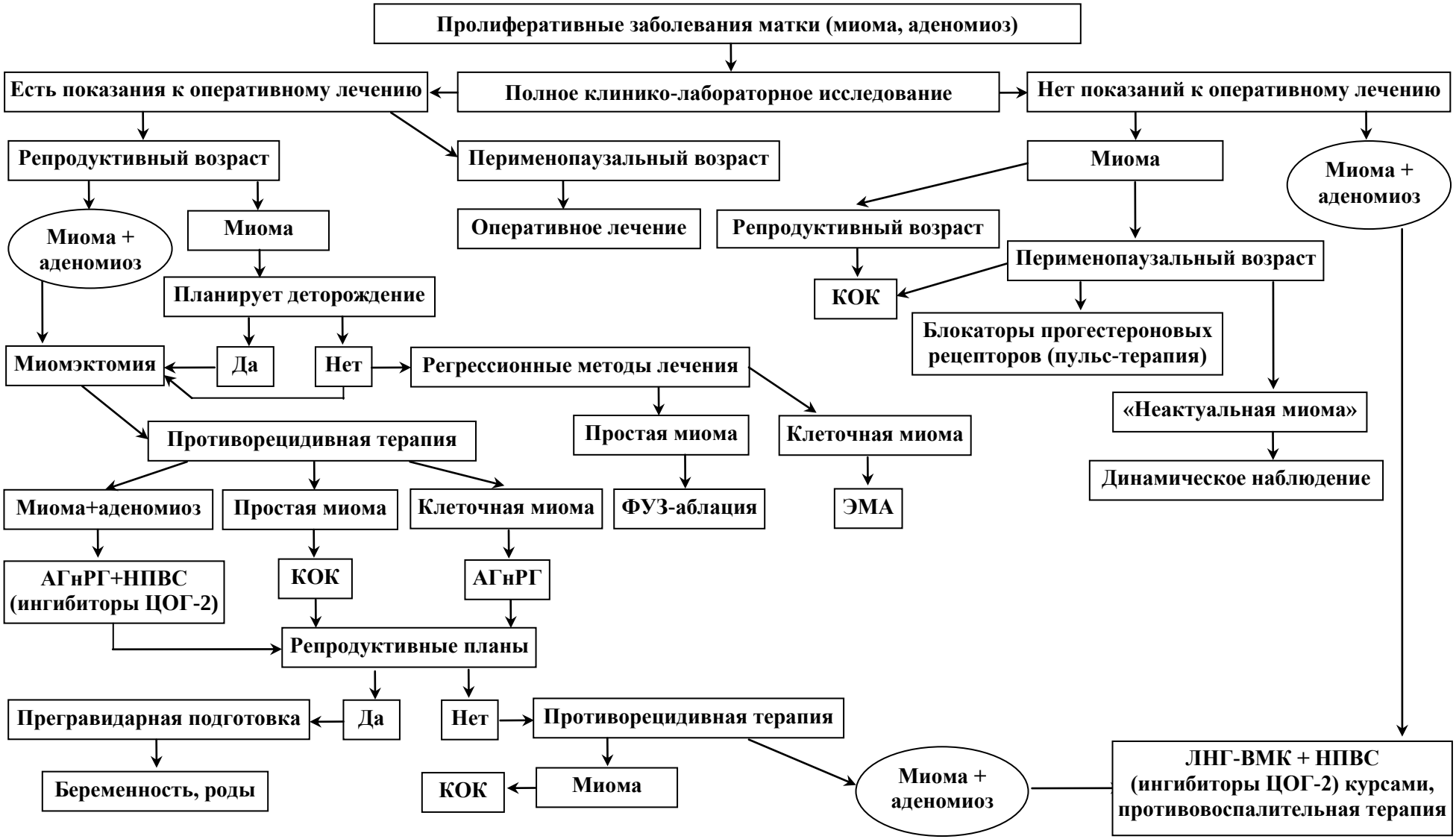


Рисунок 17 – Прогностический и лечебно-тактический алгоритм при пролиферативных заболеваниях матки

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог проведенного исследования, можно заключить, что миома матки и аденомиоз в сочетанных и изолированных вариантах с различным морфологическими типами узлов и лейомиосаркома матки отличаются клинико-анамнестическими, иммунологическими и молекулярно-генетическими характеристиками, позволяющими прогнозировать течение заболеваний, дифференцированно выбирать медикаментозную терапию и персонифицировать лечебную тактику. По результатам нашего анализа мы пришли к следующим **ВЫВОДАМ**:

1. Вероятность развития изолированной миомы матки (простой и клеточной) увеличивают бесплодие и отсутствие родов (p^{bf}<0,001). Доброкачественные заболевания (p^{bf}<0,001) и оперативные вмешательства на молочных железах (p^{bf}=0,003) встречаются чаще при простой миоме матке, тогда как заболевания щитовидной железы (p^{bf}=0,002) со снижением ее функции (p^{bf}=0,004) – при клеточной миоме. Факторами риска развития изолированного аденомиоза являются: нарушение менструального цикла с периода менархе по типу меноррагии (p^{bf}=0,002), гиперплазия эндометрия (p^{bf}<0,001), выскабливание стенок полости матки (p^{bf}<0,001), ДЭК шейки матки (p^{bf}=0,002), наличие опухолей яичников (p^{bf}<0,001), заболевания желудочно-кишечного тракта (p^{bf}<0,001), холецистэктомия в анамнезе (p^{bf}<0,001). Вероятность развития миомы матки в сочетании с аденомиозом увеличивают: многократные аборты (p^{bf}<0,001), ВЗОМТ (p^{bf}=0,001), ГПЭ (p^{bf}=0,032), аппендэктомия в анамнезе (p^{bf}=0,012), наличие варикозной болезни нижних конечностей (p^{bf}<0,001), заболевания органов дыхания (p^{bf}=0,005). Предикторами развития лейомиосаркомы являются ожирение (p^{bf}<0,001) и сахарный диабет (p^{bf}=0,011) у женщин с длительно существующей миомой матки (p^{bf}<0,001).

2. Сывороточный уровень МГ не зависит от характера пролиферативного процесса в матке и значимо ниже показателей нормы. Сывороточные уровни иммунных комплексов МГ-IgG и АБГ-IgG во всех группах больных значимо выше показателей нормы, у больных с лейомиосаркомой значимо выше показателей больных с доброкачественными заболеваниями матки. Уровни ЛФ и провоспалительных цитокинов (ИЛ-6; ИЛ-8; ФНО-α) и VEGF в сыворотке крови больных при любых пролиферативных процессах значимо выше показателей нормы. Характер изменений белков острой фазы, белков семейства макроглобулинов и провоспалительных цитокинов соответствует типичной воспалительной реакции с увеличением степени ее выраженности от изолированных форм заболеваний к сочетанным, достигая максимума при лейомиосаркоме.

3. В узлах изолированной миомы матки уровень экспрессии генов прогестероновых рецепторов преобладает над уровнем экспрессии генов эстрогеновых рецепторов. Миометрий, окружающий клеточные узлы, характеризуется максимально высоким в группах уровнем экспрессии генов эстрогеновых рецепторов. В очагах аденомиоза показатели экспрессии генов эстрогеновых рецепторов доминируют над уровнем экспрессии генов прогестероновых рецепторов. При сочетании миомы матки и аденомиоза уровни экспрессии генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов равнозначны. При лейомиосаркоме экспрессия генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов значимо низка.

4. Узлы изолированной миомы характеризуются высокой экспрессией гена опухолевого супрессора *PTEN*, узлы клеточной миомы имеют значимо высокий уровень экспрессии в сравнении с показателями в узлах лейомиосаркомы, изолированного аденомиоза и при сочетании миомы матки с аденомиозом, что свидетельствует о наличии риска малигнизации аденомиоза, как в изолированном варианте, так и в сочетании с миомой матки.

5. В простых миоматозных узлах и очагах изолированного аденомиоза экспрессия антиапоптотического онкобелка Bcl-2 преобладает над экспрессией маркера пролиферативной клеточной активности Ki-67, что свидетельствует о прогрессии аденомиоза и росте простых узлов за счет подавления апоптоза. В узлах лейомиосаркомы экспрессия Ki-67 значимо доминирует над экспрессией Bcl-2. В узлах клеточной миомы и миомы в сочетании с аденомиозом показатели экспрессии Bcl-2 и Ki-67 имеют равные значения.

6. Комплексная сравнительная оценка преморбидного фона и факторов риска различных пролиферативных заболеваний матки, выполненная с использованием математической модели логит-регрессии, позволяет с высокой степенью вероятности прогнозировать развитие аденомиоза у больных с миомой матки (точность модели 90%, чувствительность – 90%, специфичность – 92%), определять морфотип миоматозного узла (точность модели 78%, чувствительность – 76%, специфичность – 79%), исключать наличие лейомиосаркомы (точность модели 92,3%, чувствительность – 80%, специфичность – 95,2%).

7. Разработанный алгоритм ведения больных с пролиферативными заболеваниями матки, основанный на использовании балльных шкал клинической оценки риска развития аденомиоза, клеточной миомы и лейомиосаркомы, позволяет персонифицировать лечебную тактику (рис. 17).

С целью прогноза развития аденомиоза, простой или клеточной миомы матки и лейомиосаркомы у больных с пролиферативными заболеваниями матки и выбора оптимальной тактики ведения предложены следующие **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:**

1. Факторами риска наличия аденомиоза являются: сопутствующая гиперплазия эндометрия (15 баллов), хронический воспалительный процесс шейки матки (7 баллов), гиперполименорея (16 баллов), наличие родов (22 балла), патология эндометрия в анамнезе (25 баллов), варикозная болезнь нижних конечностей (21 балл), аппендэктомия в анамнезе (14 баллов), сывороточное содержание лактоферрина более 1,18 мг/мл (14 баллов), ИЛ-6 более 2,8 пкг/мл (10 баллов), возраст женщины 43 года и старше (8 баллов). При получении суммы баллов 100 – определяется высокая вероятность развития аденомиоза у больных с миомой матки. При наличии показаний к оперативному лечению у такой категории больных способ позволяет исключить применение малоэффективных регрессионных методик и обоснованно выбрать хирургический метод лечения. При отсутствии показаний к оперативному лечению – обоснованно включить в лечебные схемы патогенетически оправданные НПВС (ингибиторы ЦОГ-2) и ЛНГ-ВМК, воздерживаясь от рискованного назначения КОК.

2. Факторами риска наличия клеточного морфотипа узла являются: аборт в анамнезе (8 баллов), операция на матке в анамнезе (12 баллов), отсутствие родов (5 баллов), атипическое расположение узлов с нарушением кровоснабжения (8 баллов), уровень АБГ менее 0,017 г/л при наличии нарушения кровоснабжения узла (15 баллов), уровень ИЛ-6 более 3,9 пкг/мл при наличии нарушения кровоснабжения узла (21 балл), выскабливание стенок полости матки в анамнезе при отсутствии аденомиоза (10 баллов), заболевания щитовидной железы при отсутствии гиперплазии эндометрия (11 баллов). При получении суммы баллов более 20 – определяется высокий риск наличия клеточной миомы матки и обоснованно выбирается ЭМА, при сумме баллов менее 20 – определяется высокая вероятность наличия простых узлов и, при наличии условий, выбирается патогенетически обоснованный регрессионный метод лечения – ФУЗ-аблация миоматозных узлов.

3. Факторами риска наличия лейомиосаркомы являются: возраст 50 лет и старше (3 балла), наружный эндометриоз (3 балла), кровотечение в постменопаузе (4 балла), миома матки в анамнезе (6 баллов), сахарный диабет (3 балла). При получении суммы баллов более 7 – устанавливается высокий риск наличия лейомиосаркомы, что позволяет обоснованно выбрать радикальный метод оперативного вмешательства. При наличии баллов менее 7 – с высокой степенью вероятности исключается риск малигнизации, что позволяет использовать регрессионные методы лечения и обоснованно выбрать ЭМА.

4. Уровень экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN* в качестве маркера, наряду с другими показателями, целесообразно использовать для уточнения наличия злокачественной трансформации в сложных диагностических случаях. Показатели экспрессии гена *PTEN* необходимо использовать в качестве критерия благоприятного прогноза либо маркера высокого риска злокачественной трансформации после миомэктомии, что позволит дифференцированно организовать своевременные диспансерные мероприятия.

5. В комплексном обследовании больных с пролиферативными заболеваниями матки перед назначением противорецидивной терапии следует исключить заболевания щитовидной железы. Наличие заболеваний щитовидной железы требует совместного наблюдения с эндокринологом и коррекции соответствующих нарушений.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Опубликованные статьи, входящие в международные реферативные базы данных

1. Зорина, В.Н. Белки семейства макроглобулинов при аденомиозе и миоме тела матки / В.Н. Зорина, С.В. Шрамко, Р.М. Зорина, Л.Г. Баженова, Н.В. Промзелева, Н.А. Зорин // **Медицинская иммунология**. – 2015. – Т. 17. − № 3. − С. 287−292.

2. Шрамко, С.В. Регуляторно-транспортные белки и цитокины в крови больных с заболеваниями матки / С.В. Шрамко, В.Н. Зорина, Л.Г. Баженова, Р.М. Зорина, Т.Г. Рябичева, Е.В. Чевычалова, Н.А. Зорин // **Акушерство и гинекология.** − 2016. − №. 5. − С. 104−108.

3. Шрамко, С.В. Миома матки и аденомиоз: молекулярная характеристика по экспрессии генов стероидных рецепторов // С.В. Шрамко, Л.Ф. Гуляева, Л.Г. Баженова, В.Г. Левченко // **Акушерство и гинекология.** − 2018. − № 4 − С. 58−63.

4. Шрамко, С.В. Взаимосвязь экспрессии генов стероидных рецепторов в тканях матки и сывороточных концентраций иммунорегуляторных белков, цитокинов, половых стероидов при пролиферативных заболеваниях / С.В. Шрамко, В.Н. Зорина, Н.А. Зорин, И.А. Ботвиньева, С.В. Архипова, В.В. Лихачева // **Медицинская иммунология.** − 2018. – Т. 20. − № 5. − С. 731−738.

Опубликованные статьи в изданиях и журналах, которые входят в перечень ВАК при Минобрнауки РФ

5. Зорина, В.Н. Взаимодействие α-2-макроглобулина с некоторыми цитокинами и рецепторами эндоцитоза: возможный механизм связывания транспорта и доставки в клетку в норме и при воспалении / В.Н. Зорина, Н.А. Зорин, С.В. Архипова, Т.В. Конышева, Н.А Трофименко, СВ. Шрамко // **Молекулярная медицина**. − 2009. − № 1. − С. 30−35.

6. Шрамко, С.В. Молекулярная характеристика миомы тела матки по экспрессии генов стероидных рецепторов, STS, SULT и PTEN / С.В. Шрамко, А.С. Лещенко, Е.П. Хвостова, М.А. Сабанцев, Л.Г. Баженова, Л.Ф. Гуляева // **Молекулярная медицина**. – 2013. − № 6. − С. 39−43.

7. Шрамко, С.В. Цитокиновый профиль и содержание иммунорегуляторных белков у больных с пролиферативными заболеваниями матки / С.В. Шрамко, В.Н. Зорина, Л.Г. Баженова, Р.М. Зорина, М.А. Сабанцев, Н.А. Зорин // **Российский вестник акушера-гинеколога**. – 2015. – Т. 15. − № 3. – С. 20−23.

8. Исакова, О.В. Иммунорегуляторные белки и цитокины при миоме тела матки / О.В. Исакова, Л.Г. Баженова, С.В. Шрамко, В.Н. Зорина **// Российский вестник акушера-гинеколога**. – 2015. – Т. 15. − № 5. −. С. 15−18.

9. Шрамко, С.В. Пролиферативные доброкачественные и злокачественные заболевания репродуктивных органов у жительниц г. Новокузнецка: анализ динамики демографических показателей / С.В. Шрамко, Л.Г. Баженова, М.В. Чифранова // **Медицина в Кузбассе.** – 2016. – Т. XV. − № 3. − С. 57−63.

10. Сабанцев, М.А. Информативность стандартных методов диагностики пролиферативных заболеваний эндометрия / М.А. Сабанцев, Л.Г. Баженова, С.В. Шрамко, В.Г. Левченко, Л.А Маркина, Е.П. Хвостова // **Российский вестник акушера-гинеколога.** − 2017. – Т. 17. − № 1. − С. 62−66.

11. Лихачева, В.В. Регуляторно-транспортные белки сыворотки крови и фоллирулярной жидкости в прогнозе результативности экстракорпорального оплодотворения у женщин с аденомиозом / В.В. Лихачева, Л.Г. Баженова, Р.М. Зорина, А.Г. Маркдорф, Т.С. Чирикова, С.В. Шрамко, С.Н. Филимонов // **Медицина в Кузбассе.** – 2017. − Т. XVI. − № 3. − С. 64−69.

12. Шрамко, С.В. Пролиферативные заболевания матки: анамнестические и клинико-морфологические параллели / С.В. Шрамко, Л.Г. Баженова, О.И. Бондарев, В.В. Лихачева // **Российский вестник акушера-гинеколога**. − 2017. – Т. 17. − № 4. − С. 78−83.

13. Лихачева, В.В. Оценка влияния клинических факторов на результативность программ экстракорпорального оплодотворения / В.В. Лихачева, А.Г. Маркдорф, Л.Г. Баженова, А.Е. Власенко, С.В. Шрамко // **Бюллетень сибирской медицины.** − 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 49−59.

14. Баженова, Л.Г. Доброкачественные и злокачественные заболевания матки: профиль экспрессии генов стероидных рецепторов и опухолевого супрессора *PTEN /* Л.Г. Баженова, С.В. Шрамко, Л.Ф. Гуляева // **Молекулярная медицина.** − 2018. − № 3. − С. 42−45.

15. Баженова, Л.Г. Современный взгляд на патогенез пролиферативных заболеваний матки / Л.Г. Баженова, С.В. Шрамко, М.А. Сабанцев, Л.Ф. Гуляева // **Российский вестник акушера-гинеколога**. − 2018. – Т. 18 . − № 6. − С. 31−40.

Патенты на изобретения

16. Шрамко, С.В. Способ прогнозирования вероятности развития пролиферирующей миомы матки. Патент РФ № 2676035 / С.В. Шрамко, А.Е. Власенко, Л.Г. Баженова, Лихачева В.В. – № 2018126913; заявл. 20.07.2018.

17. Шрамко, С.В. Способ прогнозирования вероятности развития аденомиоза у женщин с миомой матки. Патент РФ № 2676050 / С.В. Шрамко, А.Е. Власенко, Л.Г. Баженова, В.В. Лихачева – № 2018123877; заявл. 29.06.2018

18. Шрамко, С.В. Способ прогнозирования наличия саркомы матки у женщин с пролиферирующей миомой матки. Патент РФ № 2682801 / С.В. Шрамко, А.Е. Власенко, Л.Г. Баженова, В.В. Лихачева – № 2018130436; заявл. 21.08.2018

Другие публикации

19. Шрамко, С.В., Баженова Л.Г. Пролиферативные заболевания матки: современные аспекты патогенеза и лечебной тактики: учебное пособие // Новокузнецк, 2018. – 62 с.

20. Шрамко, С.В. Сывороточные иммунорегуляторные белки (альфа-2-макроглобулин и лактоферрин) при лейомиоме и аденомиозе: Материалы XV Всероссийского научного форума «Мать и дитя». − Москва, 2014. − С. 237−238. / С.В. Шрамко, Л.Г. Баженова, М.А. Сабанцев, Т.С. Чирикова.

21. Шрамко, С.В. Возможен ли прогноз характера пролиферативного процесса в матке. / С.В. Шрамко, Л.Ф. Гуляева, Л.Г. Баженова, М.А. Сабанцев. «Медицина − Здоровье» Аллергология и иммунология. – Москва, 2016. – Т. 17. − № 4. − С. 270.