

На правах рукописи

САДОВНИКОВА ЕЛЕНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ЭНДОМЕТРИОИДНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ ЯИЧНИКОВ МАЛОЙ
ВЕЛИЧИНЫ. ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

14.03.02 – Патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт морфологии человека» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Соломатина Антонина Андреевна
Михалева Людмила Михайловна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Духин Армен Олегович

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, профессор кафедры

доктор медицинских наук, профессор

Щёголев Александр Иванович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства и перинатологии им. Акад. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической анатомии, профессор кафедры

Ведущая организация:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области

Защита диссертации состоится «__» _____ 2020 года в 14.00 на заседании Диссертационного совета Д 208.072.15 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1 и на сайте: www.rsmu.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2020 года.

Учёный секретарь Диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Хашукоева Асият Зулъчифовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В рамках демографического кризиса последних десятилетий, назрела острая необходимость разрешения дискуссионных вопросов относительно фертильности женщин, страдающих эндометриозом, и определению влияния хирургического лечения эндометриoidных образований яичников (ЭОЯ) на овариальный резерв (ОР) (Адамян Л.В., 2017; Давыдов А.И., 2018; Дубинская Е.Д., 2018; Jayaprakasan K., 2018; Terzic M., 2019).

Изучение сложившихся контroversий и нерешённых вопросов тактики ведения контингента с ЭОЯ малой величины (до 30 мм) диктует необходимость поиска представлений о предпочтительном методе хирургического лечения, адекватности его объёма, целесообразности самого факта оперативного вмешательства (Roman H. et al., 2018; Rehmer J.M., 2019; Singh S.S., 2019). Известно, что пролиферативная активность эпителия ЭОЯ значительно превышает таковую при фолликулярных кистах (Быков А.Г., 2017). Повышенный индекс функциональной активности и отсутствие гистологически верифицированного диагноза не позволяет наблюдать пациенток с впервые выявленными ЭОЯ.

Имеются убедительные сообщения, что при длительном наблюдении ЭОЯ может компрометировать кровоток в гонаде, тем самым вызывая уменьшение объёма овариальной ткани. Кроме того, доказана важная роль железотранспортных белков, а также NO-связывающей способности белков крови в формировании оксидативного стресса, способствующего на локальном и системном уровнях развитию эндометриоза (Сонова М.М., 2016; Sanchez A.M., 2016; Scutiero G. et al., 2017). В результате активизации процессов оксидативного стресса, хронического воспаления и фиброза, в неизменной ткани яичника выявляется редукция фолликулярной плотности (Vitale S.G., et al., 2018). Важен и временной аспект – необоснованное удлинение обследования должно соотноситься с пониманием снижения ОР с возрастом.

Степень разработанности научной темы

Безопасность энуклеации ЭОЯ в отношении последующего функционирования яичников всё чаще подвергается сомнению в современной литературе (Alammari R., 2017; Donnez J., 2018; Clark N.V., 2019). Несмотря на то, что эксцизионная хирургия считается золотым стандартом хирургического лечения ЭОЯ, большинство исследователей сообщили о негативном влиянии энуклеации на яичниковую ткань за счёт разделения плотных подэпителиальных сращений между капсулой и воротами яичников (Falcone T., 2019; Lockyer E.K., 2019). Альтернативой была предложена комбинированная пункционно-аблационная методика для наиболее бережного отношения к яичнику с позиции сохранения ОР, что особенно актуально для инфертильных пациенток (Georgievska J., 2015; Pundir J., 2017). Углублённый анализ исследуемой литературы не выявил сведений, освещающих эхографические, гемодинамические и сывороточные параметры ОР при ЭОЯ малой величины, в зависимости от применения различных методик оперативного лечения. Несомненна роль иммуноферментного (ИФА) и иммуногистохимического (ИГХ) исследования с целью прогностической оценки заболевания. Несмотря на значительное количество исследований, позволяющих изучить молекулярные механизмы, лежащие в основе патогенеза эндометриоза, до сих пор до конца не изучен пролиферативный потенциал ЭОЯ малой величины (Samimi K.A., 2019).

Цель исследования

Разработать дифференцированный подход к ведению пациенток с ЭОЯ малой величины, на основании изучения морфофункционального состояния яичников до и после оперативного лечения с использованием различных методик хирургического лечения: эксцизионной или пункционно-аблационной, и применения иммуногистохимического исследования.

Задачи исследования

1. Оценить морфофункциональное состояние овариального резерва до хирургического лечения ЭОЯ малой величины.

2. Обосновать значимость эхографических (объём яичников - $V_{\text{см}^3}$, количество антральных фолликулов - КАФ, диаметр фолликулов; показатели интраовариальной перфузии – индекс резистентности - IR, максимальная артериальная скорость - V_{max} см/сек) и эндокринных индикаторов (АМГ, ФСГ, ЛГ, E_2 , ингибин В) на основании оценки состояния овариального резерва до и послеоперационном периоде с учётом применения различных методик хирургического лечения: эксцизионной или пункционно-аблационной.

3. Изучить иммуногистохимические особенности стероидогенеза (ER- α , PR-A), уровень пролиферации (Ki-67), апоптоза (p53, Bcl2) и межклеточной адгезии (β -катенин) в тканях ЭОЯ малой величины.

4. Оценить состояние менструальной и репродуктивной функции у пациенток с ЭОЯ малой величины до и после органосохраняющих методик оперативного вмешательства.

5. Разработать дифференцированный подход к выбору метода оперативного лечения у пациентов с ЭОЯ малой величины.

Научная новизна

В результате проведённого исследования получены приоритетные данные по оценке морфофункционального состояния яичников до и после различных органосохраняющих техник оперативного лечения ЭОЯ малой величины, на основании индикации эхографических и эндокринных показателей ОР.

Морфофункциональные изменения после хирургического лечения имели место у всех пациентов, независимо от применяемой техники оперативного лечения. Степень снижения ОР зависела от применяемой интраоперационной методики. Установлены параллели с локализацией ЭОЯ, стадией распространения эндометриоза по rASRM, возрастом пациентов, рецидивом. В сравнительном аспекте, отмечены более выраженные изменения при двусторонней топографии, независимо от применяемой методики оперативного вмешательства.

Показатель уровня снижения АМГ, в зависимости от метода оперативного вмешательства отражал процент снижения АМГ в образцах

сыворотки крови, коррелировал с потерей примордиального фолликулярного пула, обусловленного применением различных методик оперативного вмешательства.

Впервые проведена сравнительная оценка биохимических маркеров, СА 125 и GdA в сыворотке крови, перитонеальной жидкости и ткани у наблюдаемых с ЭОЯ малой величины, методом ИФА и ИГХ анализа. Выявлена прямая положительная корреляционная зависимость между концентрацией маркеров в биологических жидкостях, тканях и стадией распространения эндометриоза по rASRM, рецидивом образования. Получено достоверно значимое увеличение концентрации биомаркеров в перитонеальной жидкости, превышающие показатели в сыворотке крови более чем в 30 раз.

На основании изучения ИГХ маркеров выявлен повышенный пролиферативный потенциал, низкий уровень апоптоза и активные процессы инвазии и межклеточной адгезии, что свидетельствует о целесообразности оперативных вмешательств при ЭОЯ малой величины.

Теоретическая и практическая значимость работы

При проведении спектрального анализа параметров ОР дана оценка морфофункционального состояния яичников после различных органосохраняющих методик оперативного лечения ЭОЯ малой величины. Предложена организационная модель выбора соответствующей методики оперативного вмешательства, способствующей улучшению функционального состояния яичников и реализации репродуктивного потенциала у пациенток фертильного возраста. Рассчитан процент снижения АМГ в зависимости от метода оперативного вмешательства.

Регрессионная модель изучаемых СА125 и GdA в сыворотке крови и ПЖ, может быть использована для прогнозирования степени распространённости заболевания и предложена для диагностики ЭОЯ малой величины. На основании результатов ИГХ исследования, констатирована сохраняющаяся пролиферативная активность (Ki-67), активные процессы межклеточной адгезии (β -катенин) и снижение проапоптотического индекса (p-53, Bcl2), что

доказывает отсутствие необходимости динамического наблюдения пациенток с ЭОЯ малой величины.

Разработан и апробирован персонифицированный подход к выбору метода оперативного лечения пациенток репродуктивного возраста с ЭОЯ малой величины.

Методология и методы исследования

Методология научно-исследовательской работы основана на изучении морфофункционального состояния яичников у женщин репродуктивного возраста после различных органосохраняющих методик оперативного лечения ЭОЯ малой величины, на основании оценки основополагающих маркеров овариального резерва.

Диагностический алгоритм включал в себя изучение клинико-анамнестических, эндоскопических, морфологических, иммуноферментных и иммуногистохимических показателей. В соответствии с аспектами доказательной медицины после архивации базы данных проводился статистический анализ полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. При обнаружении ЭОЯ малой величины у пациенток репродуктивного возраста необходимо провести многоуровневый анализ состояния ОР с оценкой эхографических и сывороточных индикаторов. Следует информировать пациенток о вероятном снижении овариального запаса, возможном увеличении размера ЭОЯ и влиянии на фертильность.

2. На выбор адекватного метода оперативного вмешательства у пациентов с ЭОЯ малой величины влияют возраст пациентки, овариальный статус (оценка ультразвуковых и сывороточных маркеров до операции), топография (одно-/двусторонние образования), локализация ЭОЯ в яичнике (эксцентрично/парапортально), степень выраженности спаечного процесса, рецидив образования, репродуктивные планы.

3. Применение пункционно-аблационной методики может быть рекомендовано для пациенток с ЭОЯ малой величины: при локализации в

области ворот яичника и двусторонней топографии, у пациенток с бесплодием планирующих наступление беременности в течение первого года после операции, у наблюдаемых с рецидивом ЭОЯ, пациенток старшей возрастной группы.

4. Анализ ИГХ маркеров выявил повышенный индекс пролиферации (Ki-67) у 74,5% обследованных, снижение процессов апоптоза (повышение экспрессии ингибитора апоптоза bcl-2 и снижение индуктора p53) у 23,5% и 31,3% соответственно, повышение инвазии и межклеточной адгезии (b-катенин) у 62,7% наблюдаемых с ЭОЯ малой величины. Полученные результаты ИГХ исследования свидетельствуют о нецелесообразности динамического мониторинга ЭОЯ малой величины.

Степень достоверности результатов исследования

Статистический анализ данных проводился по общепринятым методам вариационной статистики с использованием пакета лицензионных компьютерных программ IBM® SPSS® Statistics версии 23.0.0.0 и Microsoft Excel 2013. Статистически значимым для всех видов анализа считали значения $p \leq 0,05$. Распределение внутри выборок отличалось от нормального, для попарного сравнения использовали непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Валидация прогностических маркеров проводилась на основании построения прогностических моделей бинарного классификатора с использованием ROC-кривых (Receiver Operator Characteristic), многомерного логистического регрессионного анализа.

Апробация работы

Основные результаты работы доложены и обсуждены на: XI и XII Международной Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых учёных (Москва, 2016, 2017); научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2016); XIII Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 2019).

Апробация диссертации состоялась на совместной научно-практической

конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, сотрудников лаборатории клинической морфологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека, сотрудников гинекологических отделений ГБУЗ «Городская клиническая больница №31 ДЗ г. Москвы и ГБУЗ Центра планирования семьи и репродукции ДЗ г. Москвы (протокол № 4 от 11.11.19)

Личный вклад соискателя

Диссертантом изучены современные отечественные и зарубежные источники литературы. Автором лично проведена работа по клинико-инструментальному скринингу тематических пациенток, оперативному вмешательству, анализу клинико-лабораторных и инструментальных исследований; статистической обработке полученных данных и анализу результатов исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01– Акушерство и гинекология и 14.03.02 – Патологическая анатомия. Результаты проведённого исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4, 5 паспорта акушерства и гинекологии и пунктам 1, 2, 3 паспорта патологическая анатомия.

Реализация и внедрение результатов работы в практику

Полученные научные и практические данные внедрены в работу гинекологических отделений ГБУЗ ГКБ №31 ДЗМ (главный врач – к.м.н., Ефремова Н. М), ГБУЗ Центр планирования семьи и репродукции ДЗМ (главный врач – к.м.н. О.А. Латышкевич), ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (директор – д.м.н., профессор Михалева Л.М). Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе при подготовке студентов, ординаторов и аспирантов на кафедре акушерства и гинекологии педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Публикации по теме работы

По теме опубликовано 14 научных работ, из них 4 – в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ.

Объём и структура работы

Диссертация изложена на 222 страницах печатного текста, состоит из введения, 6 глав, состоящих из обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов клинических исследований, морфологических исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель включает 294 источника: 78 – отечественных и 216 – зарубежных авторов. Иллюстративный материал представлен 15 таблицами, 11 диаграммами, 18 рисунками, 5 приложениями.

Материалы и методы исследования

Настоящая работа выполнена в период с 2013 по 2019 гг. на клинической базе кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета РНИМУ им. Н. И. Пирогова Министерства Здравоохранения Российской Федерации (зав. кафедрой – академик РАН, д.м.н., профессор Курцер М.А.) в гинекологических отделениях ГБУЗ ГКБ №31 ДЗ г. Москвы (главный врач – к.м.н. Ефремова Н.М.), на базе лаборатории клинической морфологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (директор, зав. лабораторией клинической морфологии – профессор, д.м.н. Михалева Л.М.)

Нами проанализировано морфофункциональное состояние овариальной ткани у **176** пациенток с ЭОЯ малой величины. Первую группу составили 112 наблюдаемых, которым выполнялась классическая техника *эксцизии (группа I)*, вторую группу сформировали 64 пациентки, которые дали своё согласие на проведение *пункционно-аблационного лечения (группа II)*. Обследованные каждой группы были распределены на подгруппы, в соответствии с топографией эндометриоидного образования: *монолатеральные (односторонние)*, составившие **подгруппу А** и *билатеральные (двусторонние)* – **подгруппа В**. Группу контроля составили 30 здоровых женщин репродуктивного возраста, с регулярным менструальным циклом,

обратившихся в клинику с целью подбора контрацепции.

Критерии включения: репродуктивный возраст (от 18 до 40 лет), соматически здоровые пациентки с регулярным менструальным циклом, ультразвукографические признаки односторонних и двусторонних ЭОЯ менее 30 мм, пациентки, предъявляющие жалобы на бесплодие.

Критерии исключения: предшествующие операции на придатках матки, за исключением ЭОЯ, приём комбинированных пероральных контрацептивов за последние 6 месяцев; пограничные или злокачественные овариальные образования в анамнезе; эндокринные и аутоиммунные заболевания; ИМТ более 35 кг/м².

Для оценки репродуктивного потенциала пациенток в исследовании использовались ультразвуковые и биохимические маркеры ОР. Эхография выполнялась в режиме 2D на аппарате экспертного класса Toshiba Aplio 500 (Япония) по стандартной методике трансвагинальным датчиком (3,6—8,8 МГц). До оперативного вмешательства в фазу пролиферации менструального цикла проводилось измерение объёма яичников V см³, прилежащей к образованию, оценивалось количество антральных фолликулов КАФ, величина, расположение и форма. При ЦДК анализировались IR, V_{max} . В послеоперационном периоде изучали показатели V см³, КАФ, интраовариальный кровоток и фолликулогенез через 3, 6 и 12 мес. в оперированном и интактном яичниках. С целью изучения фолликулогенеза УЗИ проводили в первую и вторую фазу менструального цикла, оценивали васкуляризацию доминантного фолликула и жёлтого тела.

Оперативное лечение выполнено лапароскопическим доступом с использованием стойки фирмы «Karl Storz™» (Германия), по общепринятой методике. После подтверждения и уточнения диагноза определялась лапароскопическая методика удаления ЭОЯ, с учётом сохранения овариального резерва. С помощью *пункционно-абляционной* методики кистозное образование пунктировали, содержимое абластично аспирировали. Для биполярной коагуляции использовался электрохирургический генератор Karl Storz Autocon

II 350 (мощность тока при биполярной коагуляции 35 Вт). Аргоноплазменная коагуляция проводилась с использованием аргоноплазменного комплекса «Plasma Jet» (Великобритания).

Биохимический скрининг оценивали в предоперационном и в послеоперационном периоде через 3, 6, 12 месяцев. Концентрацию гипофизарных и стероидных гормонов сыворотки крови определяли методом иммуноферментного анализа. Для определения сывороточной экспрессии АМГ использовался набор АМН Gen II ELISA Beckman Coulter, Inc. США A79765, базальный уровень ФСГ, ЛГ, ингибина В в сыворотке крови (Immunoteck, Франция).

Иммуноферментный анализ (ИФА) проводился с использованием опухольассоциированного антигена СА 125 и прогестеронзависимого белка гликоделина А GdA в сыворотке крови и перитонеальной жидкости. Для определения концентрации GdA и СА-125 использовали наборы реагентов Glycodelin ELISA (Bioserv Diagnostics, Германия) и СА125 ELISA (Fujirebio Diagnostics, Inc., Япония).

Морфологическое исследование проводилось по стандартной методике. Перед гистологическим исследованием биоптаты яичников фиксировали в 10%-ом нейтральном забуференном формалине. Гистологическая проводка осуществлялась на гистопроцессоре Bond Max фирмы Leica (Германия). После заливки в парафин, срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологические препараты просматривали на микроскопе DML 1000 Leica (Германия).

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) проводилось с помощью иммуногистостейнера Bond-max фирмы Leica (Германия) с применением моноклональных антител (DAKO, UK, LabVision, USA): к рецепторам эстрогена и прогестерона, маркеру пролиферативной активности клеток негистоновому белку Ki-67, ингибитору апоптоза Bcl-2, проапоптотическому белку p53, белку межклеточной адгезии β -катенину, GdA (LifeSpan BioSciences, Inc., США), СА-125 (Fujirebio, Inc., Япония).

Статистический анализ полученных данных осуществлялся с помощью программ IBM SPSS Statistics 23.0.0.0 и Microsoft Excel 2013. Валидация прогностических маркеров проводилась на основании построения прогностических моделей бинарного классификатора с использованием ROC кривых (Receiver Operator Characteristic).

Результаты исследования и их обсуждение

На дооперационном этапе на эхографических снимках лоцировались округлые, анэхогенные образования диаметром от 9 до 30 мм ($19,5 \pm 1,2$ мм). Одной из особенностей ЭОЯ малой величины являлось отсутствие чётко визуализируемой псевдокапсулы на эхограммах, ЭОЯ были расценены нами как, ретенционные образования, что потребовало ультразвукового мониторинга в течение последующих 3-х менструальных циклов. Малый размер ЭОЯ нередко затруднял визуализацию характерной для ЭОЯ мелкодисперсной взвеси или эффекта «молотого стекла» у 50 (30,6%) обследованных. Наиболее часто ЭОЯ малой величины располагались эксцентрично – 94 (53,4%). Локализация ЭОЯ в области ворот яичника отмечена у 52 (29,5%) пациенток. Сочетание центральной и периферической локализации отмечено у 30 (17%). Нами установлена редукция параметров овариального резерва у наблюдаемых с ЭОЯ малой величины ещё на дооперационном периоде. В **подгруппе А** установлено снижение объёма яичниковой ткани в 1,3 раза ($V = 5,8 \pm 1,7$ см³), редукция фолликулярной плотности - в 1,5 раза ($4,5 \pm 1,2$), уменьшение овариальной перфузии в 1,2 раза ($V_{max} - 10,8 \pm 0,6$ см/сек IR- $0,52 \pm 0,02$); у пациенток с центральной топографией, по сравнению с контрольной группой, $p \leq 0,05$. Наиболее выраженные нарушения стояния ОР выявлены у пациентов с **подгруппы В**. Отмечено достоверное снижение V см³ яичников в 1,6 раза ($6,8 \pm 1,9$ см³), общего КАФ в 1,4 раза ($6,8 \pm 0,4$), по сравнению с монолатеральными ЭОЯ ($p \leq 0,05$). Спецификой интраовариальной дооперационной гемодинамики при центральной локализации ЭОЯ явилось снижение перифолликулярной перфузии и повышение внутрияичникового импеданса ($V_{max} - 9,3 \pm 0,6$ см/с, IR $-0,65 \pm 0,04$). При *двусторонних* ЭОЯ

интраовариальная динамика представлена в виде немногочисленных цветковых локусов в строме и характеризовалась высоким импедансом резистентности – IR - $0,68 \pm 0,04$. Суммарная частота овуляции при одностороннем расположении ЭОЯ составила $\geq 70\%$ и значительно не отличалась от таковых в популяции, и достоверно реже фиксировалась при УЗИ скрининге двусторонних ЭОЯ ($\leq 50\%$). Через 3 месяца подгруппа IA у 60 (75,6%) обследованных выявлено уменьшение V см³ яичника в 1,3 раза по сравнению с дооперационными значениями, $p \leq 0,05$. На эхограммах визуализировались деформированные антральные фолликулы, неправильной булавовидной формы. Выявлена редукция плотности антральных фолликулов, КАФ от 2 до 6 ($4,2 \pm 0,4$). При доплерометрии отмечено усиление интенсивности интраовариальной перфузии в 1,4 раз: Vmax – $15,7 \pm 0,3$ см/сек, IR - $0,40 \pm 0,04$. Через 6 месяцев зарегистрировано снижение сонографических и гемодинамических показателей ОР по сравнению с предыдущим исследованием в 1,6 раз. Динамический мониторинг через 12 месяцев подтвердил тенденцию к снижению эхографических показателей овариального резерва у пациентов подгруппы IA (диаграмма 1). Объем оперированного яичника составил $V = 4,5 \pm 1,7$ см³. Показатели доплерометрии: Vmax = $11,3 \pm 0,4$ см/сек, IR = $0,42 \pm 0,8$. На протяжении всего периода наблюдения у 4 (6,5%) пациенток сохранялись выраженные нарушения фолликулогенеза в оперированной гонаде: V = $3,8 \pm 0,6$ см³, КАФ – 1-2 деформированных фолликула, размерами 2-3 мм, внутрияичниковый кровоток не определялся.



В группе, применения подгруппа IIA объём овариальной ткани составил ($V = 6,9 \pm 0,5 \text{ см}^3$), что больше в 1,2 раза по сравнению с группой эксцизии ($p < 0,05$). Определялись антральные фолликулы от 4-9 в ультразвуковом срезе, составляя ($6,5 \pm 1,1$), правильной округлой формы, диаметром $5,5 \pm 0,18 \text{ мм}$. Показатели интраовариального кровотока свидетельствовали об улучшении перфузии ($V_{\max} - 12,8 \pm 0,5 \text{ см/сек}$, $IR - 0,48 \pm 0,06$). Мы не выявили достоверной разницы в объёме яичника у 12 (28,5%) пациенток ($V = 7,1 \pm 0,2 \text{ см}^3$), по сравнению с дооперационными значениями. При локализации в области ворот яичника у 8 (19%), отмечено уменьшение объёма овариальной ткани ($V = 5,3 \pm 1,3 \text{ см}^3$) по сравнению с группой контроля. При этом показатели в 1,2 раза превышали таковые в сравнении с молатеральной эксцизией ($p < 0,05$). Нами выявлено снижение объёма овариальной ткани до $5,7 \pm 0,4 \text{ см}^3$, КАФ до 4-8 ($5,5 \pm 1,2$) через 6 месяцев по сравнению с предыдущим исследованием, что возможно, обусловлено уменьшением послеоперационного отёка и асептического реактивного воспаления овариальной ткани. Через 12 месяцев выявили улучшение качественных характеристик ОР, по сравнению с группой эксцизии.

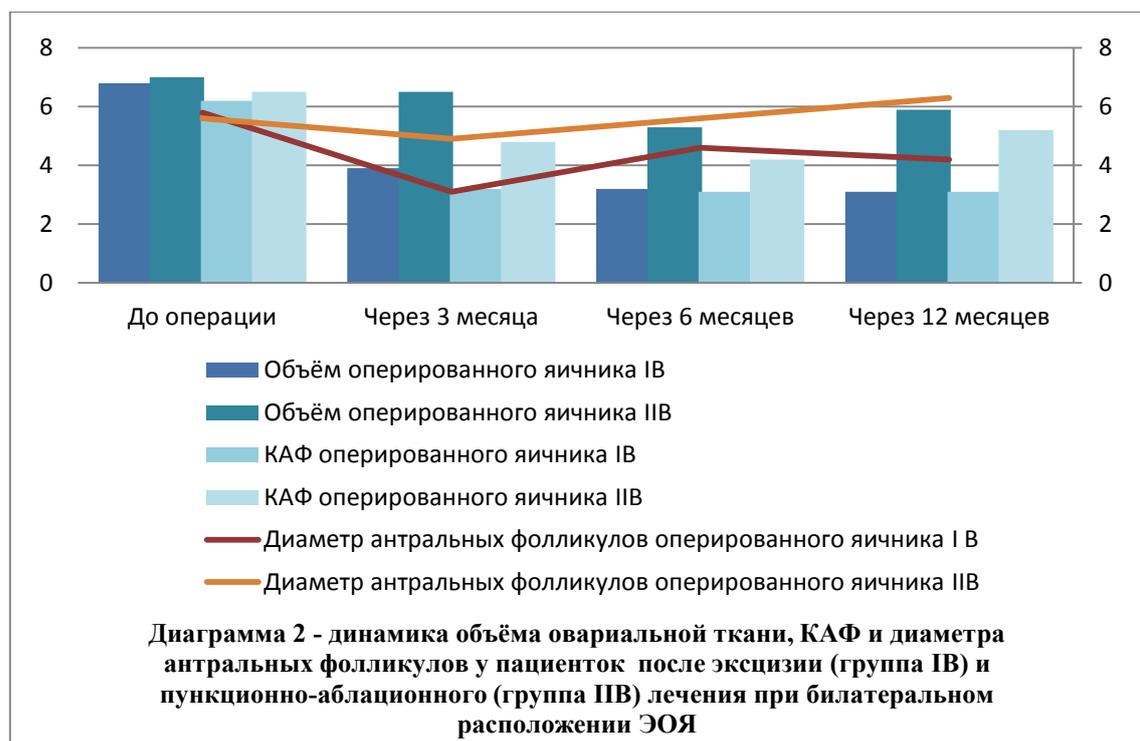
Объём яичника составлял в среднем $V = 6,5 \pm 0,8 \text{ см}^3$, КАФ $7,5 \pm 0,29$.

Фолликулы выглядели как округлые эхонегативные включения, лоцировались эксцентрично в области ворот яичника. Диаметр фолликулов составил $5,1 \pm 0,3$ см. Показатели кровотока свидетельствовали об улучшении внутрияичниковой перфузии ($IR=0,52 \pm 0,03$; $V_{max} - 11,3 \pm 0,7$ см/сек). Существенные нарушения функционального состояния оперированной гонады сохранялись у 8(19%) пациенток с центральным расположением ЭОЯ, отмечалось снижение объема яичника в 1,5 раза в течение всего периода наблюдения. Показатели гемодинамики снижены в 1,2 раза, по сравнению с таковыми до операции $V_{max} - 9,3 \pm 1,2$ см/сек, $IR - 0,46 \pm 0,4$.

Заслуживают особого внимания оценка морфофункционального состояния яичников при билатеральной топографии (**подгруппа IB**) ЭОЯ малой величины. У пациенток после перенесённой двусторонней эксцизии количественная оценка свидетельствовала о редукции плотности антральных фолликулов и овариальной паренхимы в 2 раза, по сравнению с монолатеральной эксцизией, $p < 0,05$. Средний объем оперированных яичников не превышал $V = 4,1 \pm 1,2$ см³. Оценка интраовариальной гемодинамики характеризовалась сниженной перифолликулярной перфузией и повышением внутрияичникового импеданса ($V_{max} = 9,8 \pm 1,6$ см/сек, $IR=0,52 \pm 0,03$). Нами отмечено улучшение показателей овариального резерва *через 6-12 месяцев* у 10% обследованных. На протяжении всего периода наблюдения у 3 (9,0%) наблюдаемых после технически затруднённой билатеральной эксцизии и применения дополнительного комбинированного селективного гемостаза, объем яичников не превышал 2,5 см³, антральные фолликулы не визуализировались, что привело к утере функциональной роли половых гонад и снижению генеративной функции.

При оценке параметров ОР через 3 месяца после применения **пункционно-абляционной методики** (**подгруппа IB**), выявлена редукция плотности антральных фолликулов, что привело к снижению объема овариальной паренхимы в 1,5 раза, по сравнению с односторонними ЭОЯ $p \leq 0,05$. У 10 (5,7%) наблюдаемых объем яичников достоверно не отличался от

дооперационных значений и был выше в 1,3 раза аналогичных показателей группы эксцизии. Отмечено уменьшение числа пациенток со сниженными показателями овариального резерва через 6-12 месяцев, по сравнению с предыдущим исследованием, на 5,4% от общего числа обследованных. Только у 2 (1,1%) обследованных после двусторонней абляции, при локализации в области ворот яичника, показатели ОР оставались сниженными, составляя $V=3,5\pm 1,2$ см³, КАФ- $3,2\pm 2,1$. Интраовариальная перфузия была снижена в 1,2 раза, по сравнению с показателями после молатеральной энуклеации. При проведении сравнительной оценки частоты овуляции констатировано снижение частоты овуляторных циклов на 25% после молатеральной и на 45% после билатеральной энуклеации ЭОЯ, что ассоциировано с негативным влиянием эксцизии на морфофункциональное состояние яичников (диаграмма 2).



Признаки овуляции наблюдались у каждой второй после односторонней абляции и у каждой третьей после двусторонней. Полученные наблюдения предполагают, что энуклеация ЭОЯ сопряжена со значительным редуцирующим влиянием на овариальный резерв у 54 (48,2%) обследованных после лапароскопической эксцизии.

Снижение овариального резерва после применения пункционно-

аблационной методики отмечено у 16 (24.5%) обследованных, что позволяет рекомендовать данную методику как альтернативу классической эксцизии для инфертильных пациенток с ЭОЯ малой величины.

Диагностические паттерны верификации ЭОЯ, основанные на эхографических параметрах, не представляют клинической значимости без оценки эндокринных индикаторов ОР. Нами оценена клиническая значимость АМГ, ЛГ, ФСГ, Е₂, в оценке состояния ОР. Наиболее чувствительным маркером снижения функционального состояния яичников после операции, является АМГ. Численные значения АМГ у пациенток с ЭОЯ малой величины изменялись в зависимости от интраоперационной методики, вида дополнительного гемостаза, особенно в воротах яичника, рецидива образования, стадии распространения эндометриоза (rASRM), возраста наблюдаемых. Нами был рассчитан процент снижения АМГ в зависимости от метода оперативного вмешательства. Расчёт производился с использованием следующей формулы:
$$K = \frac{AMG_{pre} - AMG_{post}}{AMG_{pre}} \times 100\%$$

При расчёте коэффициента потерь овариального запаса через *6-12 месяцев* после применения эксцизии суммарный численный показатель уровня снижения АМГ составил $K = 18,5\%$. Непреднамеренное удаление здоровой ткани яичника, во время применения эксцизионных методик может определить уменьшение резерва яичника в послеоперационном периоде. Оценивая коэффициент снижения АМГ через *6-12 месяцев* после операции с применением пункционно-аблационной методики в отношении ЭОЯ малой величины, нами было установлено снижение значения по сравнению с техникой эксцизии в 1,3 раза, составляя $K = 14,5\%$. При использовании пункционно-аблационной техники коэффициент снижения АМГ был минимальным.

Повышение дискриминационного уровня СА125 и GdA может потенциально свидетельствовать о наличии пролиферативной активности ЭОЯ малой величины. Результаты иммуноферментного анализа, выявили увеличение концентрации биомаркеров в перитонеальной жидкости более чем в

30 раз, по сравнению с показателями в сыворотке крови, $p \leq 0,05$. Уровень СА 125 в перитонеальной жидкости составлял в среднем $1167,8 \pm 57,9$ Ед/мл. Средняя концентрация GdA - $1474,8 \pm 63,9$ нг/мл. Экспрессия СА-125 и GdA в ткани ЭОЯ варьировалась в широких пределах. Коэффициент экспрессии СА 125 составил $14,5 - 76,4\%$ ($45,4 \pm 7,9\%$), GdA - $12,61 - 71,3\%$ ($41,9 \pm 6,3$).

В ходе нашего исследования мы провели ИГХ типирование образцов стенки ЭОЯ. Спектр рецепторной активности ЭОЯ малой величины установила увеличение экспрессии к рецепторам эстрогена ER- α , что свидетельствовало о повышении эстрогеновой активности в стенке ЭОЯ в течение прогрессии заболевания. Порог рецепторной чувствительности к эстрогенам составил от 10% до 65% ($37,5 \pm 3,5\%$). Интенсивность экспрессии рецепторов прогестерона PR-A была достоверно вдвое выше, по сравнению с рецепцией эстрогенов – $30,7 - 70,2\%$ ($65,8 \pm 12,5\%$). Оценивая пролиферативную активность, уровень экспрессии белка Ki-67 в операционном материале было определено его значение от 8 - 60% ($34 \pm 5,3\%$). Экспрессия Ki-67 прямо пропорционально коррелировала со стадией эндометриоза rASRM (рисунок 1 а, б). Положительное окрашивание к p53 отмечено в 16(31,3%) образцах ткани.

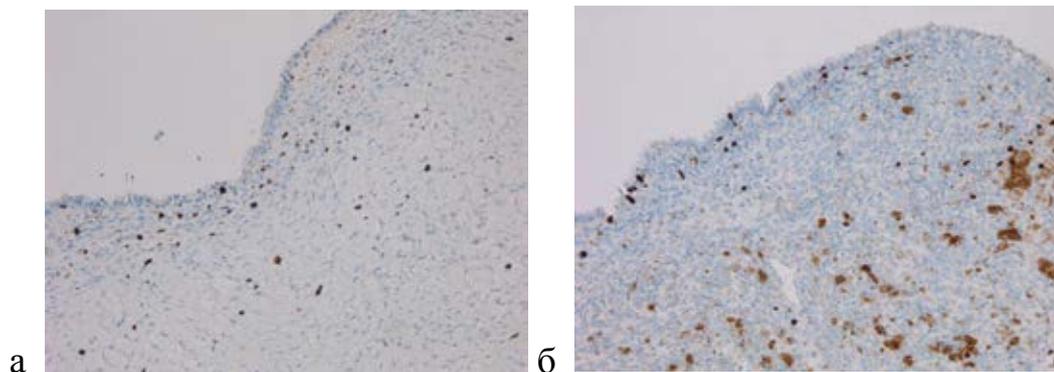


Рисунок 1(а-б) – Иммуногистохимическая реакция к Ki-67 в образцах ткани ЭОЯ малой величины: а-умеренная экспрессия при монолатеральной топографии; б -выраженная экспрессия при билатеральной топографии, в строме; ув. 200

Уровень экспрессии опухольсупрессирующего белка p53 имел широкие значения – $5,8\% - 25,5\%$ ($15,6 \pm 7,8\%$). Низкие значения соответствовали пациенткам с высокой экспрессией Ki-67. Исходя из этого, следует, что при

повышении пролиферативной активности ЭОЯ малой величины, подавляются процессы апоптоза. Накопление белка Vcl-2 отмечено у 20,5% наблюдаемых с ЭОЯ как в эпителиальном, так в стромальном компонентах. Экспрессия ингибитора апоптоза показала накопление его в ткани от 30,5-60,8% , в среднем составляя $45,6 \pm 3,5\%$. Гиперэкспрессия апоптатического белка свидетельствует о подавлении активности процессов апоптоза в стенке ЭОЯ малой величины. Положительное окрашивание к β -катенину было выявлено у 32 (62,7%) пациенток с ЭОЯ. Экспрессия белка в стенке ЭОЯ варьировала от 10%-65%, составляя в среднем $35,2 \pm 5,5\%$ (рисунок 2 а, б).

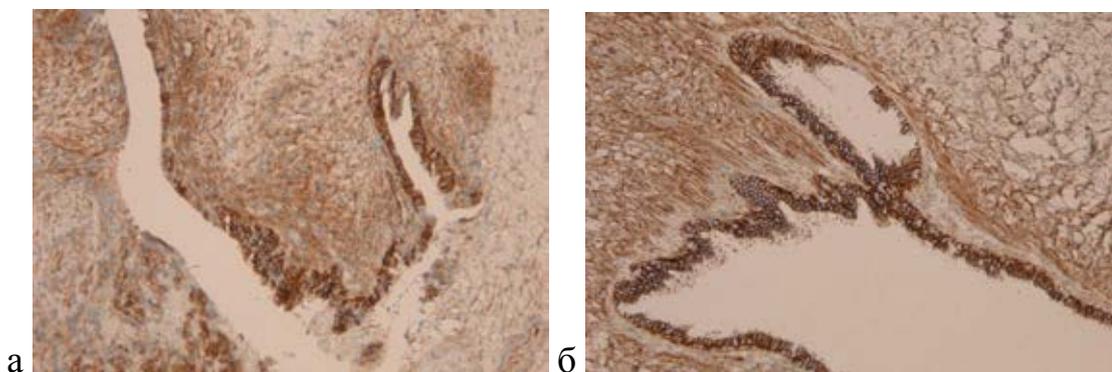


Рисунок 2 (а, б) – Иммуногистохимическая реакция к β -катенину в эпителиальной выстилке и строме образцов ткани ЭОЯ малой величины: а-умеренная экспрессия при монолатеральной топографии; б-выраженная экспрессия при билатеральной топографии; ув. 200

Следовательно, положительное окрашивание определяет способность эндометриоидных клеток к их адгезии на брюшине, инвазии и прогрессированию заболевания. Проведённое исследование выявило положительную корреляцию между стадией заболевания (rASRM) и уровнем экспрессии β -катенина, $p \leq 0,05$. Повышенный процент окрашивания маркера является прогностически неблагоприятным фактором, указывающим на тенденцию к прогрессирующему течению ЭОЯ.

Отдалённые результаты оперативного вмешательства изучены на основании репродуктивного здоровья. Существенные изменения менструальной функции отмечены у пациенток после билатеральной энуклеации ЭОЯ, которые выражались в удлинении менструального цикла, нерегулярными менструациями, опсоменореей. У 3 (3,2%) обследованных

после билатеральной эксцизии установлена вторичная аменорея. У пациенток групп моностеральной эксцизии и пункционно-аблационной методики в подавляющем большинстве наблюдений у 108 (73,4%) менструальный цикл был не изменён, достоверной зависимости от метода оперативного лечения не выявлено. Состояние ОР после различных методик оперативного вмешательства находит отражение в реализации репродуктивной функции. Через 12–24 месяца были заинтересованы в беременности 123 (71%), из них реализовали свою репродуктивную функцию 29 (23,5%) обследованных, перенесших лапароскопическую эксцизию; после пункционно-аблационной методики спонтанная беременность наступила у каждой второй наблюдаемой. При двусторонних ЭОЯ спонтанная беременность встречалась в 2 раза реже, чем у исследуемых с моностеральными ЭОЯ. Высокая частота бесплодия среди пациенток после лапароскопической эксцизии является следствием непреднамеренного удаления овариальной паренхимы и потерей фолликулярного пула [Соломатина А.А., 2018; Стрыгина В.А., 2019].

Следовательно, органосохраняющие операции на яичниках по поводу ЭОЯ малой величины, несмотря на совершенствование методов хирургического лечения, негативно сказываются на состоянии ОР, снижая репродуктивный потенциал.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Перспективным является дальнейшая разработка и внедрение органосохраняющих методик лечения ЭОЯ малой величины, поиск и оценка ИГХ маркеров для прогнозирования течения заболевания, рецидивов, целесообразности гормонотерапии в послеоперационном периоде.

Выводы

1. На дооперационном этапе ЭОЯ малой величины приводят к снижению овариального резерва у пациенток фертильного возраста. Степень снижения его коррелирует с возрастом, длительностью заболевания, топографией (одно/двусторонняя), локализацией в яичнике (парапортально/эксцентрично), рецидивом образования.

2. В послеоперационном периоде после эксцизионной техники констатировано снижение овариального резерва на 42,5%, после применения пункционно-аблационной методики у 21,7% обследованных. Через год, наиболее чувствительным индикатором оценки овариального резерва являлся АМГ. Снижение концентрации АМГ отмечено на 17,3% и 11,4% соответственно по группам (эксцизия и пункция-абляция).

3. Оценка иммуногистохимических маркеров у пациенток с ЭОЯ малой величины сопровождалась увеличением экспрессии маркера пролиферативной активности Ki-67 у 74,5%, активацией маркера межклеточной адгезии β -катенина у 62,7%, повышением экспрессии антиапоптотической активности Bcl-2 у 20,5% и снижением индукторов апоптоза p53 у 31,3% наблюдаемых пациентов. Экспрессия стероидных рецепторов ER-a и PRA у пациенток с ЭОЯ малой величины характеризовалась разнонаправленностью: отмечено увеличение экспрессии PRA в 2 раза по сравнению с экспрессией ER-a.

4. Восстановление естественной фертильности отмечено у 61,2% пациенток после пункционно-аблационного лечения, у наблюдаемых с применением эксцизионных методик - у 31,6%. Рецидив отмечен у 12,2% и 16,4%, соответственно с учётом используемой техники оперативного лечения (эксцизия\ пункционно-аблационная).

5. Выбор метода оперативного лечения у пациенток с ЭОЯ малой величины зависел от состояния ОР на дооперационном этапе и должен базироваться на комплексной оценке эхографического и эндокринного скрининга, возраста пациенток, топографии (одно/двусторонние), локализации ЭОЯ в яичнике (парапортально/эксцентрично), рецидива заболевания и репродуктивных планов.

Практические рекомендации

1. Перед выполнением оперативного вмешательства всем пациенткам с ЭОЯ малой величины следует соотнести состояние овариального резерва, с учётом современных ультразвуковых и сывороточных маркеров. Необходимо

предоставить информацию о возможном редуцирующем влиянии хирургии, рисках рецидива, альтернативных техниках лечения, вероятности витрификации ооцитов до операции

2. Констатация неизбежного негативного влияния органосохраняющих операций на овариальный резерв определяет потребность в анализе послеоперационного риска развития инфертильности с учётом ультразвукового и биохимического скрининга. При снижении овариального пула, у пациенток старшего репродуктивного возраста, рецидиве заболевания, предпочтительно использовать персонализированный подход с решением вопроса о донации ооцитов в рамках реализации программ ВРТ.

3. Целесообразно рекомендовать планирование беременности в естественном цикле не ранее чем через 3 - 6 месяцев после оперативного лечения ЭОЯ малой величины, во избежание рецидива заболевания и потери овариального пула с течением времени.

4. Полученные нами результаты ИГХ исследования не позволяют применять динамический мониторинг при ЭОЯ малой величины. Иммуногистохимическое типирование позволяет определить степень пролиферативной активности.

5. При оперативном лечении у пациенток фертильного возраста с ЭОЯ следует использовать пункционно-аблационную методику:

- при малых размерах ЭОЯ менее 30 мм
- локализации в области ворот яичника и двусторонней топографии
- при рецидиве образования
- в позднем репродуктивном возрасте

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Садовникова, Е.А. Значимость шкалы серого цвета (mean grey value) в дифференциальной диагностике эндометриоза яичников/ Соломатина А.А., Шабрина О.В., Кавтеладзе Е.В., Булатова Л.С., Садовникова Е.А.//Вестник Российского Государственного медицинского университета, специальный выпуск №2 2013.- С93-97
2. Садовникова, Е.А. Сравнительная оценка объема удаленной ткани яичника при различных вариантах эндометриоза/ Михалева Л.М., Соломатина А.А., Кавтеладзе Е.В., Бирюков А.Е., Шабрина О.В., Садовникова Е.А.// Сборник тезисов. Международная научная конференция, Москва 2014.- С 180-182
3. Садовникова, Е.А. Recurrence of ovarian endometriosis / В.А. Стрыгина, А.А.Соломатина, И.З.Хамзин, Л.С.Булатова, Е.А. Садовникова // **Вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии.** - 2015 - №6. -Т.14 -С. 29-33.
4. Садовникова, Е.А. Клинико-морфологическая и иммуногистохимическая характеристика эндометриоза яичников в зависимости от тяжести заболевания/Л.М.Михалева, А.А.Соломатина, Е.А.Садовникова, В.А.Стрыгина // **Клиническая и экспериментальная морфология.** - 2016 - № 3(19). - С.15-21.
5. Садовникова, Е.А. Иммуногистохимический фенотип рецидивирующих эндометриоидных образований яичников / Л.М. Михалева, А.А. Соломатина, М.А. Курцер, В.А. Стрыгина, Е.А. Садовникова// **Клиническая и экспериментальная морфология.** - 2017 - №4(24). - С.15-21.
6. Садовникова, Е.А. Определение концентрации СА-125 и гликоделина А у пациенток репродуктивного возраста с эндометриозом яичников в перитонеальной жидкости и сыворотке крови / Е.А. Садовникова, Л.М. Михалева, А.А. Соломатина, М.Н. Болтовская, Н.А. Старосветская, И.И. Степанова, В.А. Стрыгина // Сборник научных трудов международной научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии». - 2016. - С.228-229
7. Садовникова, Е.А. Иммуногистохимическая диагностика с антителами к гликоделину А и СА-125 у пациенток репродуктивного возраста с эндометриозом яичников / Е.А. Садовникова, Л.М. Михалева, А.А. Соломатина, М.Н. Болтовская, Н.А. Старосветская, И.И. Степанова, В.А. Стрыгина // Сборник научных трудов международной научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии». - 2016. - С.228-229.
8. Садовникова, Е.А. Эндометриоз яичников малой величины. Состояние овариального резерва до и после органосохраняющих операций/

- А.А.Соломатина, Е.А.Садовникова, М.Ю.Тюменцева, М.З.Аргун, Л.Б.Чабиева, С.В.Штыров, О.В.Братчикова// **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.**- 2019, том 18, №1.- С-20-27
9. Садовникова, Е.А. Оценка овариального резерва до и после лапароскопической хирургии эндометриоза яичников малой величины / Соломатина А.А., Садовникова Е.А., Аргун М.З., Чабиева Л.Б.// Сборник тезисов XIII Международный конгресс по репродуктивной медицине//- Москва 2019. С 421-422
 - 10.Садовникова, Е.А. Влияние современных методов гемостаза на генеративный аппарат яичников/ Сборник тезисов XIII Международный конгресс по репродуктивной медицине// Соломатина А.А., Хамзин И.З., Тюменцева М.Ю., Садовникова Е.А., Аргун М.З., Чабиева Л.Б. –Москва 2019. С 422-423
 - 11.Sadovnikova, E. Histological analysis of ovarian tissue adjacent to the cyst wall of endometrioma after laparoscopic cystectomy /Solomatina A., Kavteladze E., Shabrina O., Sadovnikova E., Ivanishchik A.//9-th Athens Congress on women's Health and disease "From puberty to menopause", Greece, Athens,2014
 - 12.Sadovnikova E. Morphologic study of the excised ovarian tissue by laparoscopic cystectomy in women with ovarian endometriosis/ Solomatina A.A, Michaleva L.M., Kavteladze E.V., Dzidzaria F.G., Sadovnikova E.A// 16th World Congress on Human reproduction 18-21 march Berlin Germany -2013-Vol.5.- N.4-P.66
 - 13.Sadovnikova E. Immunohistochemical peculiarities of recurrent ovarian endometriosis// Mikhaleva L., Solomatina A., Strygina V., Sadovnikova E., Shkapazyan N., Komleva R.// Virchows Archiv European Journal of Pathology Volume 469 Supplement1, sep. 2016
 - 14.Sadovnikova E. Individual approach to the choice of optimal treatment technique small ovarian endometriosis// Solomatina A.A., Sadovnikova E.A, Argun M.Z., Chabieva L.B//XVIII International congress of medical sciences - Bulgaria, Sofia, 09-12 may, 2019 –P. 192