

На правах рукописи

Аракелов Сергей Эрнестович

**ГИПЕРПЛАЗИЯ ЭНДОМЕТРИЯ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ,
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭНДОКРИННЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ
ПАТОГЕНЕЗА И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ**

14.01.01 – акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва — 2017

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации.

Научный консультант:

доцент кафедры акушерства и гинекологии
с курсом перинатологии медицинского факультета
Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН,
доктор медицинских наук

**Оразов
Мекан Рахимбердыевич**

Официальные оппоненты:

заведующий кафедрой акушерства и гинекологии №1
лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор

**Ищенко
Анатолий Иванович**

руководитель поликлинического отделения
ГБУЗ МО МОНИИАГ
доктор медицинских наук, профессор

**Балан
Вера Ефимовна**

заведующая кафедрой акушерства и гинекологии №2
ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор

**Артымук
Наталья Владимировна**

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1).

Защита диссертации состоится _____ 2017 года в 11.00 часов по адресу: 117333, г. Москва, ул. Фотиевой, д. 6 на заседании диссертационного совета Д.212.203.01 при Российском университете дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Макляя, д. 6).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке РУДН (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Макляя, д. 6) и на сайте <http://dissovet.rudn.ru>.

Автореферат размещен на сайте <http://dissovet.rudn.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д.212.203.01
кандидат медицинских наук

**Лебедева
Марина Георгиевна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В течение последних десятилетий в России, как и в большинстве стран мира, сформировалась отчетливая тенденция к росту распространенности гормонозависимых гинекологических заболеваний. В полной мере это относится к гиперпластическим процессам эндометрия (ГПЭ), доля которых в общей структуре болезней женских половых органов составляет 15–40%, а при сочетании с миомой матки достигает 76% (Сапрыкина Л.В., 2011; Нартаева А.Е., 2012). Согласно современным представлениям, развитию ГПЭ и рака эндометрия (РЭ) способствуют увеличение продолжительности и изменение образа жизни женщин, особенности их репродуктивного поведения, снижение уровня соматического здоровья (Сапрыкина Л.В., 2011; Нартаева А.Е., 2012; Sanderson P.A. и соавт., 2017).

Диагностика ГПЭ не представляет особых трудностей, однако имеет несколько спорных моментов. Распознать патологические процессы в эндометрии до появления клинической симптоматики позволяет эхографическое трансвагинальное сканирование в сочетании с цветовым доплеровским картированием (Kurosawa H. и соавт., 2012; Cormio A. и соавт., 2012; Malek-Mellouli M. и соавт., 2012). Цитологическое исследование аспирата из полости матки имеет высокую диагностическую ценность, но не всегда достаточно для верификации диагноза (Rao A.C. и соавт., 2012; Inal Z.O., 2017). Из-за возможной множественной локализации патологического процесса в слизистой оболочке матки или одновременного существования различных типов гиперплазии эндометрия (ГЭ) оптимальным признано отдельное диагностическое выскабливание стенок полости матки под контролем гистероскопии с последующей морфологической верификацией диагноза (Kotdawala P. и соавт., 2013). Однако и кюретаж матки не всегда позволяет полностью изучить весь эндометрий, так как участки с клеточной атипией могут не попасть к морфологу. Кроме того, отсутствие гистологических признаков атипичской ГЭ или аденокарциномы не исключает наличия злокачественного процесса в матке, если клинические проявления заболевания сохраняются (Upson K., 2012).

Важным моментом в диагностике ГПЭ остается квалификация патоморфолога. Частота расхождения мнений морфологов при оценке атипичской ГЭ и РЭ достигает 11–25%. Особенно сложна дифференциальная диагностика атипичской ГЭ и высокодифференцированной аденокарциномы (Menzies R. и соавт., 2011; Sanderson P.A. и соавт., 2017). В связи с этим поиск достоверных диагностических критериев остается актуальным (Чернуха Г.Е., 2009).

Вероятность озлокачествления ГПЭ остается предметом исследований на протяжении многих лет и до конца все еще не уточнена. С одной стороны, гиперпластические и пролиферативные процессы, несомненно, являются значимыми предвестниками опухолевой трансформации. С другой - совсем необязательно, что нарушения клеточного деления приведут

к развитию рака. Только 2% гиперпластических очагов без атипии прогрессирует в аденокарциному, а среди атипической ГЭ озлокачивается 25% (Driák D. и соавт., 2011; Башмакова Н.В. и соавт., 2012). Оценку риска онкотрансформации затрудняет и частое отсутствие выраженных симптомов заболевания, в том числе маточных кровотечений. Такие пациентки закономерно остаются недообследованными и не получают необходимое лечение (Chen H. и соавт., 2013).

Требуется уточнения и само понятие «гиперплазия» эндометрия, так как до сих пор нет единого мнения, какие патологические изменения его стромального и железистого компонентов должны рассматриваться как ГПЭ. С одной стороны, гиперплазию определяют как увеличение числа клеток, внутриклеточных структур и межклеточных образований вследствие усиленной функции органа или в результате патологического новообразования ткани. Тогда наличие множества кистозно расширенных желез в эндометрии нужно квалифицировать как ГЭ (Lin M.C. и соавт., 2009; Menzies R. и соавт., 2011). С другой стороны, под гиперплазией часто подразумевают пролиферацию желез неодинаковой формы и размеров с повышением железисто-стромального соотношения. В такой трактовке расширенные железы не следует рассматривать как гиперпластический процесс из-за очень низкой пролиферативной активности (Богатырева Л.Н., 2011; Оразов М.Р., 2016).

По инициативе ВОЗ и Международного общества гинекологов-патоморфологов ГЭ была разделена на две категории на основании наличия/отсутствия клеточной атипии, а также на простую и сложную в зависимости от степени тканевых нарушений за счет избыточной эндогенной (ановуляция, ожирение) или экзогенной стимуляции (Joshi A. и соавт., 2011). Простую и сложную ГЭ объединили в категорию - «гиперплазия», а атипическую ГЭ и высокодифференцированную аденокарциному - в категорию «эндометриоидная неоплазия» (Sun L. и соавт., 2013).

Не менее актуален научный поиск новых концепций этиологии и патогенеза ГПЭ. Роль несбалансированной эстрогенной стимуляции в развитии ГПЭ хорошо известна (Забозлаев Ф.Г., 2013; Bedell S. и соавт., 2014; Ордянец И.М., 2014). Однако гистогенез различных повреждений эндометрия (ГЭ, полипы, аденокарцинома) изучен не в полной мере. С современных позиций более правильно рассматривать ГПЭ как результат нарушения равновесия между процессами пролиферации и апоптоза клеток, которые регулируются клеточными и внеклеточными компонентами на молекулярном уровне (Чернышова А.Л., 2010; Costa-Paiva L., 2011).

Иммунологическим аспектам пролиферативных заболеваний органов женской репродуктивной системы посвящены многочисленные исследования. В некоторых из них показана роль нарушения надзорных функций иммунной системы в отношении пролиферации клеток. Эти изменения могут быть наследственно обусловлены либо развиваться при экспрессии

или мутациях ряда генов в течение жизни. Согласно данной концепции, главными факторами риска и триггерами патологической пролиферации являются генетические детерминанты - аллель PL-AI гена GP-IIIa, PTEN (Полина М.Л., 2008; Клинышкова Т.В., 2011; Панова Е.А., 2012; Павлова Е.А., 2013) и ксенобиотики (Станоевич И.В., 2007; Манухин И.Б. и соавт., 2010).

В настоящее время возможности консервативного лечения ГПЭ ограничены несовершенством сведений о патогенезе, рутинным подходом к выбору метода, отсутствием четкой доказательной базы и обширным перечнем противопоказаний к гормонотерапии (Шапиевский Б.М., 2009; Нартаева А.Е., 2012; Lin M.C. и соавт., 2009). Оперативное лечение сопряжено с утратой способности к деторождению, риском для жизни и здоровья и должно иметь убедительное обоснование и четкие показания. В связи с этим ранняя диагностика ГПЭ, возможность прогнозирования индивидуального риска прогрессивного течения заболевания, персонализация терапевтических подходов в возрастном аспекте остается проблемой, актуальной для акушерства и гинекологии.

Степень разработанности темы. В одних исследованиях в качестве прогностически значимых маркеров были отобраны такие факторы, как потеря экспрессии PTEN, мутации гена репарации MSH1, снижение апоптотического индекса BCL-2/BAX, а также низкий уровень экспрессии обеих изоформ прогестероновых рецепторов (PGR) (Панова Е.А., 2012; Allison K.H. и соавт., 2008). В других работах определены иные показатели: снижение экспрессии COX-2, увеличение экспрессии p16, значение морфометрического показателя D-score менее 1. Ряд авторов считают, что молекулярно-генетические маркеры, идентифицированные для РЭ (MSI, MSH1, KRAS, β -катенин и другие), едва ли могут рассматриваться в качестве надежных предикторов возникновения ГЭ (Думановская М.Р., 2015; Чернуха Г.Е., 2015; Коган Е.А., 2015; Steinbakk и соавт., 2011; Upson K., 2012).

Контраверсионным и малоизученным направлением исследования патологических изменений эндометрия на молекулярном уровне остается определение наличия метилирования гена эстрогенных рецепторов (ESR) и микросателлитной нестабильности (microsatellite instability – MSI) различных локусов генома (Думановская М.Р., 2015; Чернуха Г.Е., 2015; Коган Е.А., 2015). Авторы полагают, что наличие или отсутствие метилирования гена ESR и MSI позволит прогнозировать риск развития у женщин с определенным фенотипом различных нарушений эндометрия (ГЭ, полипы и др.) и индивидуализировать подходы к лечению. Однако использование маркеров в широкой клинической практике ограничено, прежде всего за счет высокой стоимости исследований.

Следует отметить, что в настоящее время вопрос об изменениях в структуре и свойствах эстрогенных рецепторов, связанных с полиморфизмом гена ESR, остается открытым (Думановская М.Р., 2015; Чернуха Г.Е., 2015; Коган Е.А., 2015; Van der Putten L.J.M., 2017). Пока

не доказано предположение, что риск развития некоторых гормонозависимых опухолей (эндометрия, молочной железы) коррелирует с особенностями аллельного полиморфизма ESR, а также наличием в них эпигенетических нарушений (Думановская М.Р., 2015; Чернуха Г.Е., 2015; Коган Е.А., 2015).

В последние годы для поиска в сыворотке крови новых маркеров различных заболеваний все чаще используют постгеномные методы анализа, среди которых ведущие позиции занимают протеомные технологии (Сорокина А.В., 2012).

Противоречивость результатов исследований, сложившаяся порочная практика назначения лечения без морфологической верификации диагноза ГПЭ, неточная, а зачастую просто ошибочная интерпретация морфологических исследований, низкие показатели результативности стандартного лечения обуславливают необходимость дальнейших научных изысканий в области персонифицированного менеджмента пациенток с ГПЭ. Все вышеизложенное определило актуальность и выбор темы настоящего исследования.

Цель исследования: разработать и внедрить эффективный комплекс диагностических мероприятий, направленный на повышение точности ранней диагностики и прогнозирования течения гиперпластических процессов эндометрия в различные возрастные периоды жизни женщины.

Задачи исследования:

1. Выявить значимые факторы риска и определить возможности математического прогнозирования развития и течения гиперпластических процессов эндометрия у женщин в репродуктивном возрасте, в период менопаузального перехода и в постменопаузе.

2. Оценить информативность традиционных методов диагностики гиперплазии эндометрия в различные возрастные периоды жизни женщины.

3. Определить характер сочетанного полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (GSTP1, CYP1A1) и гена межклеточных взаимодействий (GP-IIIa) у пациенток изучаемой когорты в возрастном аспекте.

4. Изучить состояние иммунореактивности организма (продукция эмбриоспецифических аутоантител) у женщин с ГПЭ в репродуктивном возрасте, в период менопаузального перехода и в постменопаузе.

5. Определить патогенетическую роль плазменных и тканевых лизосомальных гидролаз N-ацетил-b-D-глюкозаминидазы (ACE) и b-D-глюкуронидазы (GLU) при гиперплазии эндометрия у женщин репродуктивного, переходного и постменопаузального возраста.

6. Уточнить патогенетическую роль и возможность использования биомолекулярных маркеров Ki67 и p53 с целью прогнозирования течения гиперпластических процессов эндометрия в различные возрастные периоды жизни женщины.

7. Определить ценность иммуногистохимического исследования рецепторного статуса эндометрия в идентификации гиперпластических процессов эндометрия в возрастном аспекте.

8. Разработать и внедрить алгоритм ранней диагностики и прогнозирования течения гиперпластических процессов эндометрия у женщин репродуктивного, переходного и постменопаузального возраста, оценить его эффективность.

Научная новизна. В результате исследования разработана научная идея, существенно обогащающая концепцию ранней диагностики ГПЭ, прогноза и профилактики рецидивов заболевания и онкотрансформации эндометрия. Расширены и дополнены существующие представления о структурно-функциональных и молекулярных механизмах патогенеза ГПЭ в возрастном аспекте. Показана роль полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (антиоксидантной защиты) и гена межклеточных взаимодействий (GP-IIIa) в развитии пролиферативного процесса в эндометрии.

Определены особенности нарушения надзорной функции иммунной системы в отношении регуляции пролиферации клеток. Выявлены изменения иммунореактивности (определяемой по содержанию эмбриоспецифических аутоантител) при ГПЭ в возрастном аспекте: в репродуктивном возрасте у 29% женщин - гипореактивность, в период менопаузального перехода соотношение гипореактивных к гиперреактивным составляет 10:1, в постменопаузе — 3:1. Показано значение плазменных и тканевых лизосомальных гидролаз в механизмах нарушения апоптоза при различных формах ГПЭ в возрастном аспекте.

Установлено, что патогенез развития ГПЭ в репродуктивном и пременопаузальном возрасте определяется специфичностью генных взаимодействий в системе детоксикации и межклеточных контактов. Конкурентное связывание генов с рецепторами половых стероидов дает основание считать их эндокринными «нарушителями» с гормоноподобными свойствами. Повышение активности лизосомальных ферментов в плазме крови и мембранах эндометрия создает благоприятные условия для пролиферации эндометриальной ткани, имплантации и инвазии клеток. Далее включается иммунная система, которая отвечает гиперреактивностью. В постменопаузе к развитию ГПЭ предрасположены женщины с наличием «ослабленного» аллеля D гена GSTP1, «дикого» аллеля AA гена CYP1A1 и аллеля PLA1 гена GP-IIIa, сниженной активностью лизосомальных ферментов (GLU и ACE) в плазме крови и снижением продукции эмбриотропных аутоантител (гипореактивность).

Теоретическая и практическая значимость работы. Обоснована недостаточная эффективность комплекса методов диагностики ГПЭ, используемых в рутинной практике (УЗИ, гистероскопия, стандартное морфологическое исследование). Разработаны математические модели прогнозирования риска развития и прогрессирования ГПЭ в различные периоды жизни женщины.

Практическому здравоохранению предложен модифицированный алгоритм целенаправленного обследования групп риска, включающий определение генов системы детоксикации (GSTP1 и CYP1A1) и гена межклеточных взаимодействий (GP-IIIa); исследование иммунореактивности по Эли-П-тесту, а также верификацию морфологического диагноза с использованием дополнительных иммуногистохимических критериев: уровень экспрессии ER в эпителии (167,6%) и строме (123,3%); PR в эпителии и строме (199% и 70%); пролиферативная активность Ki-67 в эпителии (7,05%) и строме (2,75%) и активность маркера апоптоза p53 в эпителии (3,6%) и строме (2,55%).

Внедрение предложенного алгоритма ранней диагностики и прогнозирования ГПЭ в клиническую практику позволяет снизить частоту рецидивов в 2,3 раза (ОШ=7,27; 95%; ДИ: 1,24–4,41), а также на 36,3% ($p < 0,05$) уменьшить затраты на ведение пациенток с ГПЭ (20 980 руб. на пациентку) за счет достоверной верификации диагноза и персонализированного выбора метода лечения с учетом риска рецидивов и онкотрансформации эндометрия.

Методология и методы исследования. Проведено когортное, проспективное исследование на базе гинекологического отделения (зав. отделением - д. м. н. Петрова В.Д.) ГБУЗ «ГКБ №12 Департамента здравоохранения города Москвы» (ныне - «ГКБ №12 имени В.М. Буянова Департамента здравоохранения города Москвы», гл. врач - к. м. н. Саликов А.В) – клинической базе кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (зав. кафедрой - член-корр. РАН, засл. деятель науки РФ, д.м.н., проф. Радзинский В.Е.). Исследование проведено в период 2003–2016 гг.

В соответствии с поставленными целью и задачами была разработана программа исследования, предусматривающая клиничко-анамнестические и инструментальные методы диагностики (ультразвуковые, эндоскопические); лабораторные (морфологические, иммуногистохимические) исследования; инструментальные (гистероскопия и отдельное выскабливание слизистой матки) и математическую обработку массива полученных данных.

Под наблюдением с целью углубленного обследования находились 788 пациенток с ГПЭ, составивших основную исследуемую группу, а также 90 условно здоровых женщин, составивших группу контроля. Основная группа, в свою очередь, была стратифицирована на три возрастные когорты. Первую составили пациентки репродуктивного возраста (25–45 лет, $n=176$), вторую – женщины, находившиеся в периоде менопаузального перехода (46–55 лет, $n=173$) и третью – пациентки в постменопаузе (56–68 лет, $n=99$). Окончательно группы формировали после морфологической верификации диагноза.

Среди пациенток репродуктивного возраста у 33,0% диагностировали железистую гиперплазию эндометрия (ЖГЭ), у 39,8% - полип эндометрия (ПЭ) и у 27,3% - аденоматозную

гиперплазию эндометрия (АГЭ). В переходном возрасте у 53,8% была выявлена ЖГЭ, у 24,3% - ПЭ и у 22,0% - АГЭ. В третьей группе (постменопауза) ЖГЭ была диагностирована у 32,3% пациенток, ПЭ - у 45,5%, АГЭ - у 22,2%. Контрольная группа была сформирована из числа женщин без ГПЭ, обратившихся для профилактического осмотра и давших информированное согласие на участие в исследовании (n=99).

Дизайн диссертационного исследования предусматривал три этапа. На первом этапе были изучены клиничко-анамнестические данные пациенток с различными вариантами ГПЭ в разрезе возрастных категорий. По результатам этого этапа были разработаны прогностические модели, позволяющие рассчитать вероятностный риск развития ГПЭ. Каждую модель характеризовали соответствующими значениями чувствительности и специфичности.

На втором этапе была изучена информативность методов рутинной диагностики, в том числе УЗИ, гистероскопии, а также результатов стандартного морфологического, иммуноферментного, молекулярно-генетического и иммуногистохимического исследования. Полученные значения сравнивали с точки зрения диагностической ценности с данными иммуногистохимического исследования. Исходя из полученных данных, был усовершенствован традиционный диагностический алгоритм верификации ГПЭ у женщин в разные периоды жизни.

Третий этап исследования был посвящен оценке клинической и экономической эффективности разработанного алгоритма ранней диагностики и прогнозирования ГПЭ. Для этого были изучены результаты обследования и исходы лечения в экспериментальной выборке пациенток с ГПЭ, отобранных «слепым» методом (n=240). Выборка была сформирована из числа женщин, поступивших на стационарное лечение с диагнозом ГПЭ и давших информированное согласие на участие. Из них 120 пациенток получали медицинскую помощь с использованием разработанного алгоритма ранней диагностики и прогнозирования, у остальных 120 участниц диагностировали ГПЭ и выбирали метод лечения по традиционному алгоритму. Срок наблюдения за пациентками экспериментальной группы составил 2 года (с 10.01.2014 г. по 30.12.2016 г.) Оценивали частоту рецидивов, длительность срока наступления первого рецидива, показатели качества жизни по опроснику SF-36 «Health Status Survey», а также экономическую эффективность суммарных затрат на диагностику и ведение пациенток с ГПЭ в лечебно-профилактическом учреждении.

Критерии включения в исследование: возраст пациенток от 18 до 70 лет, наличие гистологически подтвержденного диагноза ГЭ (МКБ: N85.0, N85.1, N84.0; простой, комплексной и атипической), наличие информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии исключения из исследования: онкологические заболевания в настоящее время или в анамнезе, острые воспалительные заболевания органов малого таза, некомпенсированные

тяжелые соматические болезни, гормонально-активные опухоли яичников, беременность, психические заболевания, отказ от участия или невыполнение рекомендаций врача.

Выкопировку данных из историй болезни и амбулаторных карт проводили с помощью разработанной статистической карты. На каждую пациентку была составлена индивидуальная карта, в которой был зашифрован 171 признак. Изучаемые параметры отражали паспортные данные, сведения об образовании, социальном статусе, наличии профессиональных вредностей, жалоб, перенесенных заболеваний (инфекционных, экстрагенитальных, гинекологических).

УЗИ органов малого таза проводили всем пациенткам на аппарате «Алока» (Япония) с использованием конвексного и секторального датчиков с частотой 3,5 МГц при наполненном мочевом пузыре и 7,5 МГц — при трансвагинальном сканировании. Определяли форму, размеры и положение матки по отношению к продольной оси таза, толщину и структуру эндометрия (М-ЭХО). Оценивали объем и эхо-структуру яичников.

Для уточнения состояния полости матки и внутриматочных структур осуществляли жидкостную гистероскопию под кратковременным внутривенным наркозом (калипсол, деприван). При выполнении исследования использовали жесткие гистероскопы типа Hamou I (30°) и Hopkins II (30°) (Karl Storz GmbH & Co, Германия) с наружным диаметром 5 мм. В качестве среды растяжения полости матки применяли стерильный изотонический раствор натрия хлорида. При обнаружении изменений структуры эндометрия гистероскопию сочетали с РДВ с последующим морфологическим исследованием полученного материала.

С целью изучения сывороточной иммунореактивности, отражающей количество и аффинность некоторых видов естественных эмбриотропных аутоантител, взаимодействующих с белками-регуляторами эмбриогенеза, использовали метод «Эли-П-тест» (ELISA-detected Probably of pathology), основанный на стандартном иммуноферментном анализе. Определяли антитела к следующим антигенам: ОБМ (антиген -1), S100 (антиген-2), АСВР-14/18 (антиген-3), МР-65 (антиген-4). В работе использовали диагностические наборы «ЭЛИП-П-Тест». Постановку реакций проводили согласно инструкции к наборам, утвержденной МЗ РФ (1999), в лаборатории молекулярной медицины Медико-экологического фонда «Чернобыль-Тест».

Анализ аллельного полиморфизма генов системы детоксикации (гена семейства цитохромов CYP 1A1, гена семейства глутатион-S- трансфераз - GSTP1) и гена межклеточных взаимодействий – GP-IIIa выполняли на базе ЗАО «ПИННИ» г. Москвы.

Активность лизосомальных ферментов ACE и GLU определяли в плазме крови, а также в ткани эндометрия. Активность ферментов выражали в нмолях освобожденного за 1 минуту из субстрата 4-нитрофенола или фенолфталеина на 1 мг белка в исследуемом материале. Количество белка в пробе подсчитывали по методу Lowry в модификации Сяткина С.П.

Морфологические и иммуногистохимические исследования проводили на базе патологоанатомического отделения ФГБУ ФКЦ ВМТ ФМБА России (зав. отделением – д.м.н., профессор Забозлаев Ф.Г.). Гистологическому исследованию подвергали операционный материал после отдельного диагностического выскабливания стенок матки. Проводку материала и приготовление парафиновых блоков осуществляли по стандартной схеме. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином. При осмотре гистологических препаратов устанавливали характер патологического процесса в эндометрии и степень выраженности ГЭ, руководствуясь гистологической классификацией ВОЗ (2003).

Для иммуногистохимического анализа содержания эстрогеновых (ЭР), прогестероновых (ПР) рецепторов в ткани эндометрия в качестве первичных антител использовали моноклональные кроличьи антитела против anti-Progesterone Receptor (1E2), anti-Estrogen Receptor (SP1) (Ventana), моноклональные кроличьи антитела против anti-androgen Receptor (SP107) производства Spring Bioscience. Иммуногистохимическую реакцию оценивали стандартным полуколичественным методом подсчета числа клеток, экспрессирующих маркер, на 100 клеток в десяти полях зрения.

Результаты иммуногистохимической реакции (количество ИГХ-позитивных клеток) оценивали в баллах по шкале Allred (сумма баллов количества иммуноокрашенных клеток и интенсивности окрашивания) следующим образом: 0=0% клеток, 1=0,1–1% клеток, 2=2–10% клеток, 3=11–33% клеток, 4=34–66% клеток, 5=67–100% клеток. Интенсивность окрашивания оценивали в баллах следующим образом: 0 – продукт реакции отсутствует или выявлен в цитоплазме и ядрах менее 5% (экспрессия отсутствует), 1 – продукт реакции выявлен в цитоплазме и ядре от 5 до 40%, распределен фокально или диффузно (экспрессия слабая), 2 – продукт реакции выявлен в цитоплазме и ядре от 40 до 70%, распределен фокально или диффузно (экспрессия умеренная), 3 – продукт реакции выявлен в цитоплазме и ядре более 70%, распределен диффузно (экспрессия выраженная).

Экспрессию стероидных рецепторов в ядрах клеток эпителия желез и стромы оценивали также по методу гистологического счета H-score в % по формуле $S=1a + 2b + 3c$, где a - слабо окрашенные ядра клеток; b - умеренно окрашенные ядра клеток; c - сильно окрашенные ядра клеток. Оценку иммуногистохимической реакции на рецепторы к эстрогенам, андрогенам и прогестерону производили по балльной системе H-score: 0–10 - отсутствие рецепции, 11–100 - слабая рецепция, 101–200 - умеренная и 201–300 - выраженная рецепция.

На заключительном этапе настоящего исследования была проведена приблизительная оценка экономической эффективности разработанного алгоритма ранней диагностики и прогнозирования ГПЭ, исходя из установленных ранее результатов лечения пациентов. Увеличение стоимости диагностики в случае использования усовершенствованного алгоритма

рассчитывали за счет прибавления стоимости молекулярно-генетического тестирования, иммуноферментного исследования, исследования энзимной активности лизосомальных ферментов, ИГХ-маркеров (p53, Ki-67, ER, PR), составляющей 15 500 рублей из расчета на 1 пациентку. Минимальные затраты на лечение ГПЭ рассчитывали с учетом среднего числа рецидивов заболевания за 2 года и стоимости одного койко-дня пребывания в стационаре (1500 рублей), УЗИ органов малого таза (800 рублей), а также гистероскопии и РДВ (10 500 рублей). Итого при расчетах среднюю стоимость одного случая оказания медицинской помощи при рецидиве ГПЭ определяли как 12 800 рублей.

Через год после окончания лечения было проведено сравнение показателей качества жизни пациенток, оцененных с помощью опросника SF-36. Оценивали интегральные показатели: физический компонент здоровья (Physical health – PH), включающий шкалу физического функционирования, шкалу ролевого функционирования, обусловленного физическим состоянием, шкалу интенсивности боли и шкалу общего состояния здоровья; психологический компонент здоровья (Mental Health – MH), включающий шкалу психического здоровья, шкалу ролевого функционирования, обусловленного эмоциональным состоянием, шкалу социального функционирования и шкалу жизненной активности.

Положения, выносимые на защиту:

1. Использование рутинного алгоритма диагностики ГПЭ (УЗИ, гистероскопия, морфологический метод) в современных условиях не позволяет гарантировать оптимальный выбор тактики ведения пациенток ввиду невозможности определения степени активности пролиферативного процесса. Повторные внутриматочные вмешательства, наряду с недооценкой степени пролиферативного риска, создают реальные предпосылки ($B=2,03$, $p<0,001$) для развития ГПЭ и его онкотрансформации. Доля риска, которая может быть устранена при выборе патогенетической терапии, достигает 87%.

2. Математическое прогнозирование служит эффективным инструментом выделения контингентов риска ГПЭ в различные возрастные периоды жизни женщины. Наиболее значимыми ($p\leq 0,01$) факторами риска в репродуктивном возрасте являются прерывания беременности в анамнезе (более 2), воспалительные заболевания гениталий, доброкачественные заболевания шейки матки, внутриматочные манипуляции, заболевания эндокринной системы; в переходном - доброкачественные заболевания молочных желез и шейки матки, неоднократные внутриматочные вмешательства, в том числе связанные с рецидивированием ГПЭ; в постменопаузе - заболевания эндокринной системы (ожирение, сахарный диабет, заболевания щитовидной железы), доброкачественные заболевания молочных желез, внутриматочные вмешательства, связанные с рецидивированием ГПЭ.

3. Ведущим звеном патогенеза ГПЭ в репродуктивном и переходном возрасте следует считать специфичность генных взаимодействий в системе детоксикации и межклеточных контактов (увеличение активности лизосомальных ферментов GLU) и увеличение продукции эмбриоспецифических аутоантител (гиперреактивность), отражающих интенсивность пролиферативных процессов, что создает предпосылки для погрузного роста эпителия и стромы базального слоя эндометрия в подлежащий миометрий. Для женщин в постменопаузе характерны специфичность генных взаимодействий в системе детоксикации, снижение активности лизосомальных ферментов (GLU и ACE) и продукции эмбриотропных аутоантител (гипореактивность).

4. Молекулярные механизмы рецепторного статуса и изменение показателей пролиферативной активности клеток при гиперплазии эндометрия носят универсальный характер. Особенности репродуктивного возраста являются снижение уровня ER как в железах эпителия, так и в строме эндометрия; переходного и постменопаузального — дисбаланс ER и PR с преобладанием PR. Высокая пролиферативная активность эндометриальных клеток в условиях снижения апоптоза проявляется гиперэкспрессией в биоптатах эндометрия маркера пролиферации Ki67 в клетках эпителия и стромы и снижением маркера апоптоза p53, независимо от возраста ($p < 0,05$).

5. Разработанный алгоритм ранней диагностики и прогнозирования течения ГПЭ, предусматривающий выделение контингентов риска с использованием математических моделей, исследование состояния иммунореактивности, генетических («ослабленного» аллеля D гена GSTP1, «дикого» аллеля AA гена CYP1A1, аллеля A1A1 гена GP-IIIa), иммуногистохимических (ER и PR) и биомолекулярных (Ki67 и p53) маркеров ГПЭ, позволяет результативно диагностировать заболевание, определять степень активности процесса, прогнозировать течение болезни. Его внедрение в клиническую практику способствует ($p < 0,05$) снижению частоты рецидивов ГПЭ в 2,3 раза, уменьшению затрат на ведение пациенток с ГПЭ независимо от возраста на 36,3%.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Массив данных, полученных в результате исследования, был подвергнут статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировку, систематизацию исходной информации и визуализацию полученных результатов выполняли в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2010. Статистический анализ проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 23. Каждую из сравниваемых совокупностей количественных данных оценивали на предмет соответствия закону нормального распределения. Для этого в зависимости от числа обследуемых в группе использовали критерии Шапиро-Уилкса и Колмогорова-Смирнова.

В случае подтверждения нормального распределения количественных показателей полученные данные объединяли в вариационные ряды, в которых проводили расчет средних арифметических величин (M) и средних квадратических отклонений (σ) по стандартным формулам. Анализ осуществляли с использованием методов параметрической статистики.

Для оценки статистической значимости различий средних величин в нормально распределенных совокупностях рассчитывали t -критерий Стьюдента. Полученные значения оценивали путем сравнения с критическими, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Для сравнения нескольких групп пациентов (более 2) применяли однофакторный дисперсионный анализ. Статистическую значимость различий оценивали с помощью критерия F Фишера. В случае обнаружения различий между группами дополнительно проводили парное сравнение совокупностей при помощи апостериорного критерия Шеффе.

Сравнение показателей, измеренных в номинальной шкале, выполняли при помощи критерия χ^2 Пирсона. В случае анализа четырехпольных таблиц, когда число ожидаемых наблюдений в любой из ячеек четырехпольной таблицы было менее 10, рассчитывали критерий χ^2 с поправкой Йейтса. Когда число ожидаемых наблюдений в любой из ячеек четырехпольной таблицы было менее 5, для оценки уровня значимости различий использовали точный критерий Фишера. Значение точного критерия Фишера P более 0,05 свидетельствовало об отсутствии статистически значимых различий, менее 0,05 – об их наличии.

В качестве количественной меры оценки эффекта фактора риска использовали показатель отношения шансов (ОШ), определяемый как отношение вероятности наступления события в группе, подвергнутой воздействию фактора риска, к вероятности наступления события в другой группе. С целью проецирования полученных значений ОШ на генеральную совокупность рассчитывали границы 95% доверительного интервала (95% ДИ). Значимость фактора считали доказанной в случае нахождения доверительного интервала за пределами границы отсутствия эффекта, принимаемой за 1.

Построение прогностической модели для расчета риска возникновения определенной патологии выполняли при помощи метода бинарной логистической регрессии. Выбор метода был обусловлен тем, что зависимая переменная являлась дихотомической, а предикторы были представлены как качественными, так и количественными признаками, то есть могли измеряться по любой шкале. Прогностическую модель, построенную с помощью метода бинарной логистической регрессии, выражали с помощью формулы: $p = 1 - \frac{1}{1 + e^{-z}}$,

$z = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + \dots + a_nx_n$, где p — вероятность наступления исхода, $x_1 \dots x_n$ — значения предикторов, измеренные в номинальной, порядковой или количественной шкале, $a_1 \dots a_n$ — коэффициенты регрессии. Отбор независимых переменных производили методом

пошаговой прямой селекции с использованием в качестве критерия исключения статистики Вальда. Статистическую значимость полученной модели определяли с помощью критерия χ^2 . Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил показатель Наделькеркеса.

Для каждой прогностической модели определяли показатели диагностической эффективности (доля правильно предсказанных случаев как наличия, так и отсутствия изучаемой патологии), чувствительности (доля правильно предсказанных случаев наличия патологии), специфичности (доля правильно предсказанных случаев отсутствия патологии). Пороговый уровень логистической функции, соответствующий наилучшему сочетанию чувствительности и специфичности прогностической модели, определяли методом ROC-анализа.

Оценку функции безрецидивной выживаемости пациентов проводили по методу Каплана-Мейера. График оценки функции выживаемости представляли из убывающей ступенчатой линии, значения между точками наблюдений считали константными. Сравнение безрецидивной выживаемости пациентов в зависимости от наличия или отсутствия фактора риска выполняли с помощью лог-ранк критерия Манталя-Кокса.

Прогноз безрецидивной выживаемости пациентов определяли методом регрессии Кокса, подразумевающим оценку риска наступления события для рассматриваемого объекта и оценку влияния заранее определенных независимых переменных (предикторов) на этот риск. Риск рассматривали как функцию, зависящую от времени. Формула расчета риска наступления события для i -того объекта имеет вид: $h_i(t) = h_0(t) \times \exp(\beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \dots + \beta_p X_{ip})$, где $h_0(t)$ - базовый риск, одинаковый для всех объектов; β_1, \dots, β_p — коэффициенты; X_1, \dots, X_p — независимые переменные, предикторы. При увеличении значения X_j на единицу (при отсутствии изменений значений остальных переменных) риск наступления события возрастает в $\exp(\beta_j)$ раз. Критическим уровнем значимости при статистической обработке данных во всех случаях считали $p < 0,05$.

Настоящая работа выполнена в рамках основного направления научной деятельности кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета Медицинского института РУДН «Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально-экономических условиях» (номер гос. регистрации 01.9.70 007346, шифр темы 317712).

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены на: VI Региональном научном форуме «Мать и дитя» (Екатеринбург, 2010); XI, XIII Всероссийских научных форумах «Мать и дитя» (Москва, 2010; 2013); XIII Всемирном Конгрессе «Вопросы акушерства, гинекологии и бесплодия» (Германия, Берлин, 2010); Всероссийской конференции с международным участием по гинекологической эндокринологии и менопаузе (Москва, 2011); VI,

VIII Всероссийских научно-практических семинарах «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Москва, 2013; Сочи, 2015); V Всероссийском конгрессе «Амбулаторно-поликлиническая помощь - в эпицентре женского здоровья» (Москва, 2013); XXVIII Международном конгрессе с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2015). Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета Медицинского института РУДН 23 ноября 2016 года, протокол №8.

Разработанный комплекс диагностических мероприятий ГПЭ внедрен в практическую работу гинекологического отделения ГБУЗ «ГКБ имени В.М. Буянова Департамента здравоохранения города Москвы», в учебный процесс кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФПК МР РУДН.

Автором самостоятельно изучены и проанализированы данные более 900 историй болезни пациенток репродуктивного, переходного и постменопаузального периодов жизни с ГПЭ. Проведена курация 788 пациенток, их комплексное обследование: сбор анамнеза, анализ лабораторных данных, кольпоскопия, УЗИ, гистероскопия и раздельное диагностическое выскабливание стенок полости матки и цервикального канала. Участие автора в сборе первичного материала — более 90%, обобщении, анализе и внедрении в практику результатов работы — 100%. Все представленные в работе научные положения получены автором лично.

По материалам диссертации опубликовано 25 работ, из них 20 - в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Диссертация состоит из введения, которое включает в себя методологию и методы исследования, обзора литературы, пяти глав, содержащих результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, включающего выводы и практические рекомендации, указателя литературы. Работа изложена на 281 странице машинописного текста, иллюстрирована 74 таблицами и 64 рисунками. Указатель литературы содержит 205 источников, из них 104 на русском и 101 - на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследования и их обсуждение. В результате настоящего исследования установлено, что в репродуктивном периоде жизни возраст пациенток с ГПЭ колеблется от 24 до 44 лет, в среднем – $38,2 \pm 3,4$ года (95% ДИ: 36,4-40,0 лет). При этом в позднем репродуктивном возрасте (35-44 лет) находятся 65,3% женщин. Возраст пациенток с ЖГЭ в среднем составляет $33,3 \pm 5,3$ года (95% ДИ: 31,9-34,7 лет), что обусловлено преобладанием лиц от 30 до 35 лет. У женщин с ПЭ средний возраст выше - $39,5 \pm 3,7$ года (95% ДИ: 38,3-40,7 лет), из них 62,9%

относятся к возрастной группе 35–42 лет. Средний возраст пациенток с АГЭ достигает $41,8 \pm 8,1$ года (95% ДИ: 39,1–44,5 лет), из них 50% приходится на возраст 40–44 года.

Многие исследователи выделяют триаду - сахарный диабет, артериальная гипертензия, ожирение - как фактор риска возникновения ГПЭ и злокачественных заболеваний эндометрия (Горчакова Л.В., 2008; Боровкова А.В., 2009; Бантыш Б.Б., 2011). В ходе исследования установлено, что у 60,8% пациенток с ГПЭ семейный анамнез отягощен артериальной гипертензией (АГ) и гипертонической болезнью (ГБ), у 35,8% - избыточной массой тела и ожирением, у 56,3% - эндокринными заболеваниями. Выявлено, что более половины пациенток (55,1%) исследуемой группы страдают ожирением (в группе контроля – 20%, $p < 0,05\%$).

Установлено, что для пациенток с ГПЭ и ПЭ характерно раннее менархе (соответственно 25,9% и 24,3%), для женщин с АГЭ - позднее (50,0%). Заслуживает внимания обнаружение корреляционной связи средней силы между использованием ВМК и наличием ГПЭ ($r=0,43$; $p < 0,05$), а также между длительностью использования ВМК и развитием ГПЭ ($r=0,34$; $p < 0,05$). Полученные данные соотносятся с мнением ряда авторов, считающих, что использование ВМК может способствовать нарушению морфологического строения слизистой матки и послужить триггером для формирования патологических процессов эндометрия (Стрижова Н.В и соавт., 2009; Сухарева Е.А. и соавт., 2011).

Согласно полученным данным, среднее количество абортот на одну женщину в основных группах достоверно не отличалось, составляя $2,6 \pm 1,3$, в то время как в группе контроля этот показатель был значимо ниже ($1,6 \pm 1,1$; $p < 0,001$). Однако необходимо отметить тот факт, что осложнения после абортов имели место у 24,8% (из числа сделавших аборты) пациенток основной группы (33,3% - в группе контроля).

Анализ частоты экстрагенитальных заболеваний продемонстрировал, что в общей выборке у 46,6% пациенток с ГПЭ отмечены хронические заболевания органов дыхания, у 34,7% – нейроциркуляторная дистония, у 29,5% – хронические заболевания мочевой системы, без значимых различий в зависимости от формы ГПЭ. В то же время были зарегистрированы существенные различия для заболеваний сердечно-сосудистой системы ($p < 0,001$), органов дыхания ($p=0,002$) и желез внутренней секреции ($p < 0,001$). Все показатели были выше у пациенток с ГПЭ. Следует отметить, что каждая четвертая пациентка имела три и более экстрагенитальных заболевания, что подтверждает сведения о низком индексе соматического здоровья женщин изучаемой когорты.

В анамнезе у 67,6% пациенток с ГПЭ выявлено как минимум одно гинекологическое заболевание, у 31,3% - два, у 11,9% - три и более. Наиболее частыми нозологиями в анамнезе женщин изучаемой когорты оказались воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ), включая хронический эндометрит (67,6%), что созвучно мнению авторов,

указывающих, что у пациенток с ГПЭ и РЭ частота ВЗОМТ и ИППП выше популяционной (Кулаков В.И. и соавт., 2009).

В результате исследования выявлена прямая корреляционная зависимость между аномальными маточными кровотечениями (АМК) и наличием ГПЭ ($r=0,8$; $p<0,05$). Это подтверждает данные Шешуковой Н.А. (2012), показавшей высокую частоту менометроррагии у пациенток с ГПЭ (62,3%).

Для прогнозирования наличия и прогрессирования ГПЭ с помощью метода бинарного логистического регрессионного анализа у женщин репродуктивного возраста на основании полученной функции для каждой исследуемой была рассчитана вероятность наличия ГПЭ. Для определения критического значения вероятности (точка cut-off) выполняли ROC-анализ. Площадь под ROC-кривой AUC составила $0,938\pm 0,017$, $p<0,001$, что позволило оценить модель как достоверную. Прогностическая модель ($\chi^2=18,36$, $p<0,001$) включала в себя свободный коэффициент и 14 предикторов (Таблица 1).

Таблица 1 — Характеристика факторов, вошедших в модель для определения риска развития ГПЭ у женщин репродуктивного возраста

Показатель	Коэффициент регрессии ($a_1 \dots a_n$)	ОШ	95% ДИ	p
Свободный коэффициент	-7,21	-	-	-
ИМТ	1,28	3,60	1,08–6,71	0,026*
Использование ВМК	0,60	1,82	1,13–10,32	0,045*
Более 2 прерванных беременностей в анамнезе	1,88	6,55	1,98–19,69	0,002*
АМК, в том числе в анамнезе	2,16	8,67	3,4–15,41	0,031*
ВЗОМТ	1,14	3,13	1,18–9,2	0,01*
Доброкачественные дисплазии молочных желез (ДДМЖ)	0,46	1,58	1,05–7,65	0,048*
Лечебно-диагностические выскабливания в анамнезе	2,03	7,61	2,15–23,47	0,009*
Межменструальные кровянистые выделения из половых путей	0,96	2,61	1,24–10,45	0,038*
Заболевания органов мочевой системы	0,13	1,14	1,01–3,05	0,049*
Заболевания эндокринной системы	0,97	2,64	1,56–5,63	0,003*
Заболевания сердечно-сосудистой системы	0,45	1,57	1,03–4,13	0,046*
Гиперпластические процессы шейки матки	1,16	3,19	1,68–7,24	0,043*
Тянущие боли внизу живота, не связанные с менструацией	0,76	2,14	1,37–5,12	0,048*
Отягощенный семейный анамнез (ГБ, ожирение, ИБС)	0,78	2,18	1,08–6,96	0,037*

Примечание: * влияние фактора статистически значимо ($p<0,05$)

Пороговое значение функции в точке cut-off (Рисунок 1) составило 0,52. Предположение о наличии ГПЭ делали в случае рассчитанной вероятности ГПЭ выше порогового значения.

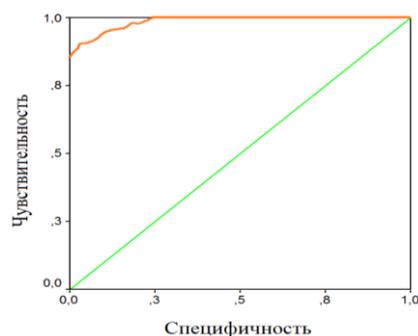


Рисунок 1 — ROC-анализ прогностической модели риска развития ГПЭ у женщин репродуктивного возраста

Чувствительность и специфичность предложенной модели в области порогового значения составила 94,9% (167 случаев из 176) и 93,3% (28 случаев из 30) соответственно. Диагностическая ее эффективность (доля верных прогнозов для всех исследуемых, составила 94,7% (195 случаев из 206).

Для прогнозирования ГПЭ у женщин в период менопаузального перехода была разработана прогностическая модель, которая включала в себя 16 предикторов (Таблица 2).

Таблица 2 — Характеристика факторов, вошедших в прогностическую модель для определения риска развития ГПЭ у женщин переходного возраста

Показатель	Коэффициент регрессии ($a_1...a_n$)	ОШ	95% ДИ	P
Свободный коэффициент	-9,22	-	-	-
ИМТ	1,13	3,10	1,14–9,83	0,045*
Воспалительные заболевания гениталий	1,92	6,82	1,57–14,62	0,033*
ВЗОМТ	1,83	6,23	2,09–21,75	0,014*
Миома матки	0,55	1,73	1,07–4,15	0,04*
Доброкачественные заболевания шейки матки	0,39	1,48	1,03–3,78	0,049*
ДДМЖ	1,03	2,80	1,36–5,41	0,007*
Гиперпластические процессы шейки матки	2,14	8,50	3,06–18,92	0,005*
Резекция молочной железы	0,65	1,92	1,15–4,84	0,034*
Лечебно-диагностические выскабливания в анамнезе	2,09	8,08	3,19–22,53	<0,001*
Болезни системы кровообращения	1,29	3,63	1,25–6,22	0,022*
Варикозная болезнь	0,91	2,48	1,18–3,94	0,037*
Заболевания органов пищеварения	0,7	2,01	1,35–4,58	0,046*
Заболевания нервной системы	0,23	1,26	1,02–2,13	0,049*
Заболевания эндокринной системы	1,46	4,31	1,57–10,24	0,006*
Заболевания сердечно-сосудистой системы	0,86	2,36	1,02–5,73	0,023*
Отягощенный семейный анамнез (ГБ, ожирение, ИБС)	0,96	2,61	1,07–4,52	0,047*

Примечание: * влияние фактора статистически значимо ($p < 0,05$)

Ее диагностическая эффективность (доля верных прогнозов среди всех исследуемых) составила 90,1% (156 случаев из 203). Чувствительность используемой логистической функции, определяемая как доля правильно предсказанных случаев ГПЭ, составила 90,2% (156 случаев из 173). Специфичность модели, соответствующая доле верных прогнозов об отсутствии ГПЭ, составила 90,0% (27 случаев из 30). Пороговое значение функции в точке cut-off (Рисунок 2) составило 0,48.

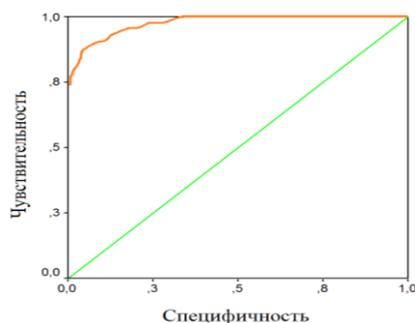


Рисунок 2 — ROC-анализ прогностической модели риска развития ГПЭ у женщин переходного возраста

Для прогнозирования ГПЭ у женщин в постменопаузе была разработана прогностическая модель, подразумевающая использование значений свободного коэффициента и 12 предикторов (Таблица 3).

Таблица 3 — Характеристика факторов, вошедших в прогностическую модель для определения риска развития ГПЭ у женщин в постменопаузе

Показатель	Коэффициент регрессии ($a_1 \dots a_n$)	ОШ	95% ДИ	P
Свободный коэффициент	-8,12	-	-	0,044*
Позднее менархе	1,42	4,14	1,14–9,83	0,047*
ВЗОМТ	2,49	12,06	1,57–14,62	0,01*
Миома матки	0,36	1,43	2,09–21,75	0,048*
Доброкачественные заболевания шейки матки	1,5	4,48	1,07–4,15	0,022*
ДДМЖ	2,34	10,38	1,03–3,78	<0,001*
Гиперпластические процессы шейки матки	2,27	9,68	1,36–5,41	<0,001*
Резекция молочной железы в анамнезе	2,76	15,80	1,15–4,84	<0,001*
Холецистэктомия в анамнезе	1,37	3,94	3,19–22,53	0,048*
Заболевания органов пищеварения	0,63	1,88	1,25–6,22	0,022*
Заболевания эндокринной системы	2,84	17,12	1,18–3,94	<0,001*
Заболевания сердечно-сосудистой системы	1,67	5,31	1,35–4,58	0,046*
Отягощенный семейный анамнез (ГБ, ожирение, ИБС)	0,37	1,45	1,02–2,13	0,048*

Примечание: * влияние фактора статистически значимо ($p < 0,05$)

Диагностическая эффективность данной модели, соответствующая доле верных прогнозов среди всех исследуемых, составила 89,1% (115 случаев из 129). Чувствительность используемой логистической функции, определяемая как доля правильно предсказанных случаев ГПЭ, составила 89,9% (89 случаев из 99). Специфичность модели, соответствующая доле верных прогнозов об отсутствии ГПЭ, составила 86,7% (26 случаев из 30).

Пороговое значение функции в точке cut-off (Рисунок 3) составило 0,53.

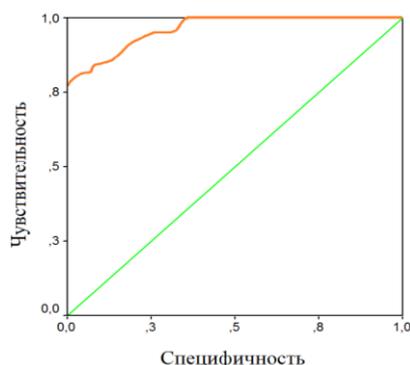


Рисунок 3 - ROC-анализ прогностической модели риска развития ГПЭ у женщин в постменопаузе

В ходе исследования также была построена общая модель прогнозирования наличия ГПЭ независимо от возраста женщины, которая включала в себя следующие предикторы (Таблица 4).

Таблица 4 — Характеристика факторов, вошедших в прогностическую модель для определения риска развития ГПЭ у женщин независимо от возраста

Показатель	Коэффициент регрессии ($a_1 \dots a_n$)	ОШ	95% ДИ	P
Свободный коэффициент	10,14	-	-	-
Возраст	0,32	1,38	1,03–2,98	0,003*
ИМТ	1,02	2,77	1,23–4,65	0,042*
АМК в анамнезе	1,14	3,13	1,76–6,14	0,039*
ВЗОМТ	1,79	5,99	2,08–12,73	0,004*
Выскабливания стенок полости матки и цервикального канала	2,03	7,61	1,94–19,04	<0,001*
Болезни эндокринной системы	3,6	36,6	5,2–97,36	<0,001*
Доброкачественные заболевания шейки матки	2,08	8,0	2,28–25,71	<0,001*
ДДМЖ	1,57	4,81	1,39–11,2	0,029*
Более 2 прерванных беременностей в анамнезе	2,14	8,5	3,57–34,32	0,031*
Отягощенный семейный анамнез (ГБ, ожирение, ИБС)	0,51	1,67	1,05–3,77	<0,001*

Примечание: *влияние фактора статистически значимо ($p < 0,05$)

Диагностическая эффективность данной модели, соответствующая доле верных прогнозов среди всех исследуемых, составила 92,8% (499 случаев из 538). Чувствительность используемой логистической функции (доля правильно предсказанных случаев ГПЭ) составила 94,4% (423 случая из 448). Специфичность модели, соответствующая доле верных прогнозов об отсутствии ГПЭ, составила 84,4% (76 случаев из 90).

Пороговое значение функции в точке cut-off (Рисунок 4) составило 0,54.

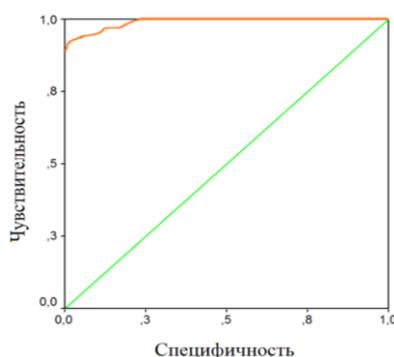


Рисунок 4 — ROC-анализ прогностической модели риска развития ГПЭ у женщин независимо от возраста

Как уже говорилось, на первый взгляд диагностика ГПЭ не представляет особых трудностей (Ордянец И.М., 2013), однако определение риска малигнизации ГПЭ существенно малосимптомным течением заболевания у части пациенток. При отсутствии АМК они закономерно выпадают из поля зрения клинициста и остаются недообследованными. Другой проблемой остается точность морфологической верификации диагноза, дифференциальной диагностики между атипической ГЭ и высокодифференцированной аденокарциномой.

В настоящем исследовании была проведена детальная сравнительная оценка эффективности клинических и инструментальных методов исследования для диагностики ГПЭ, в том числе в возрастном аспекте. Оценку осуществляли с помощью нескольких диагностических методов, расширяющих возможности интерпретации клинических данных, включая трансабдоминальное и трансвагинальное УЗИ, гистероскопию с морфологической верификацией полученных данных.

Полученные результаты свидетельствуют, что ни увеличение М-эха, ни признаки неоднородности его структуры не позволяют достоверно определить истинный характер изменений в эндометрии в период менопаузального перехода, так как физиологические изменения слизистой полости матки в течение менструального цикла довольно значительны. В постменопаузе же эндометрий в норме тонкий, атрофичный и всякое его увеличение в сочетании с кровянистыми выделениями или без таковых должно стать поводом для морфологического исследования. Установлено (Рисунок 5), что УЗИ позволяет получить правильный результат

(чувствительность) у 64,8 - 74,7% женщин без значимых возрастных различий и не дает при отсутствии заболевания ложноположительных результатов (специфичность) у 60 - 76,7% женщин до менопаузы и у 80,0% в постменопаузе ($p < 0,05$).

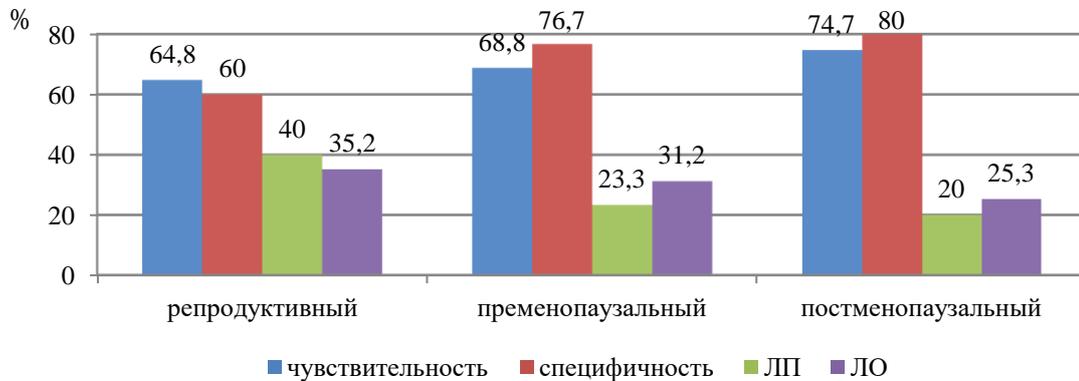


Рисунок 5 — Информативность УЗИ при диагностике ГПЭ в различные возрастные периоды

При сопоставлении результатов гистероскопии и гистологического исследования в репродуктивном возрасте эндоскопическая картина ГПЭ выявлена у 59,7% женщин (Рисунок 6). Совпадение сонографического диагноза ГПЭ и данных гистологического исследования получено у 106 женщин из 176 (чувствительность метода - 60,2%, специфичность - 56,7%).

Эндоскопическая картина ГПЭ обнаружена у 81,3% женщин, находившихся в периоде менопаузального перехода. Полное совпадение эндоскопической картины и гистологического исследования выявлено у 140 (80,9%) женщин из 173 (специфичность метода составила 83,3%).

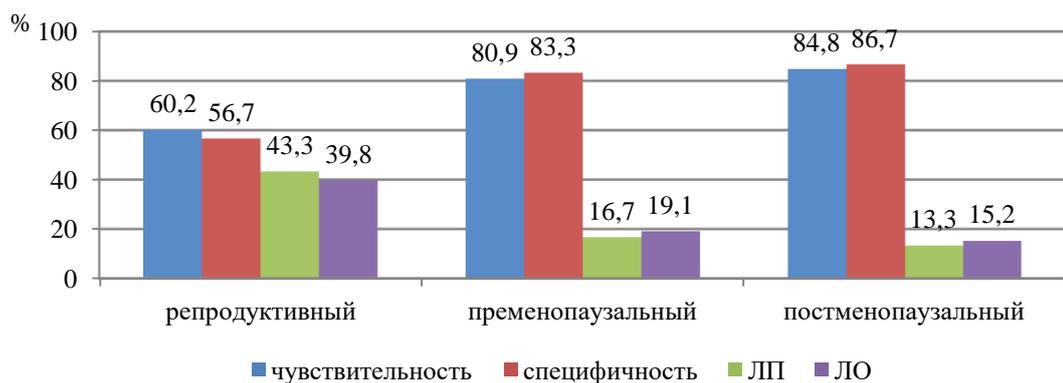


Рисунок 6 — Информативность гистероскопии при диагностике ГПЭ в различные возрастные периоды

В постменопаузальном возрасте эндоскопическая картина ГПЭ диагностирована у 85,3% женщин. Полное совпадение эндоскопической картины ГПЭ и гистологического исследования получено у 84 (84,8%) женщин из 99 (специфичность метода составила 86,7%).

Согласно современным представлениям, нельзя не согласиться с мнением многих исследователей, утверждающих, что ГЭ является полиэтиологическим заболеванием, возникновению и прогрессированию которого способствует множество разнообразных факторов и причин (Кондриков Н.И., Силакова А.В., 2010). Особого внимания заслуживают данные Fiolka R., Zubor P., Janusicova V. (2013), свидетельствующие о том, что эпигенетическое изменение GSTP1 вовлечено в развитие РЭ при его гиперпластическом процессе. Esinler I., Aktas D., Alikasifoglu M. (2006) также удалось установить, что полиморфизм гена CYP1A1 может являться существенным фактором риска возникновения гиперпластического процесса и РЭ.

При анализе генетической составляющей в патогенезе ГПЭ в ходе настоящего исследования выявлен полиморфизм гена детоксикации GSTP1: увеличение в 10 раз частоты встречаемости мутантного аллеля GSTP1 D, дефект которого приводит к снижению защитных свойств клетки. Что касается роли гена CYP1A1, то у женщин изучаемой когорты обнаружен факт преобладания гетерозиготных носителей мутации аллеля AG (62,8%), дефект которого приводит к избыточной пролиферативной активности клеток-мишеней. Вместе с тем, чем выше адгезивные способности клетки, тем сильнее выражены ее пролиферативные свойства и весомее роль интегриновых рецепторов, кодируемых геном GP-IIIa. В популяции частота встречаемости аллеля PLA1A1 гена GP-IIIa составляет 83,4%, что в 1,5 раза ниже, чем при ГПЭ (67,4%).

В результате исследования в репродуктивном возрасте наличие аллеля PLA1A1 гена GP-IIIa было обнаружено у 64,8% пациенток, в пременопаузальном — у 72,2% и в постменопаузе — у 66,7%. Частота носительства аллеля PLA1AII гена GP-IIIa при ГПЭ составила 32,4%, что в 2,5 раза выше, чем в популяции (24,8%), из них в сравниваемых возрастных когортах - соответственно у 35,2%, 27,8% и 33,3%.

Иммунологическим аспектам ГПЭ посвящено множество разноплановых исследований. Некоторыми авторами было выявлено нарушение надзорных функций иммунной системы, регулирующих процессы пролиферации клеток (Бантыш Б.Б., 2011; Сорокина А.В., 2014). В ходе настоящего исследования выявлены изменения иммунореактивности, выражающиеся в отклонении от нормальных значений у 94,36% пациенток, из них у 43,2% женщин в когорте репродуктивного возраста, у 29,9% пациенток, находящихся в периоде менопаузального перехода, и у 26,9% в когорте постменопаузального возраста. При этом отмечено преобладание пациенток с пониженной продукцией эмбриотропных аутоантител (гипореактивность), обнаруженная всего у 70,7% обследованных, из них 39,5% были в репродуктивном возрасте, 32,6% в переходном и 27,9% - в постменопаузальном.

Вместе с тем у 54,3% женщин репродуктивного возраста, у 21,7% в переходном периоде и у 23,9% пациенток постменопаузального возраста было обнаружено повышенное содержание эмбриотропных аутоантител (23,7% от общего числа пациенток), соответственно, они

принадлежали к группе гиперреактивных. Нормореактивность диагностирована лишь у 5,6% больных, в группе репродуктивного возраста – у 9,7% женщин, в переходном периоде - у 5,01% пациенток.

Выявленные изменения иммунореактивности, выражающиеся в снижении продукции эмбриоспецифических аутоантител в возрастном аспекте, лежащие в основе ГПЭ, возможно, связаны с нарушениями надзорной функции иммунной системы, регулирующей процессы пролиферации клеток, и обусловлены мутацией соответствующих генов. Увеличение мутантного аллеля GSTP1 D в 10 раз приводит к снижению защитных свойств клетки, а носительство мутантного аллеля AG гена CYP1A1 — к избыточной пролиферативной активности клеток-мишеней. Иницирующим звеном патогенеза ГПЭ является аллель PLA1A1 гена GP-IIIa, повышающий предрасположенность к усиленной пролиферации.

Ключевыми звеньями реализации каскада молекулярно-генетических механизмов стали процессы лизосомальной активности ферментов в крови и ткани эндометрия. Согласно существующим представлениям, при непосредственном участии лизосомальных ферментов осуществляются процессы программированной клеточной гибели, механизм которых лежит в основе многих заболеваний. С увеличением лабильности мембран лизосом возрастает апоптотическая активность, что дает основание считать ГПЭ связанными с ингибцией апоптоза (Гаспарян А.М., 2007; Прудникова Н.Ю., 2008).

Исследования лизосомальной активности ферментов в плазме крови женщин с ГПЭ в репродуктивном возрасте и в период менопаузального перехода показали, что метаболические расстройства обусловлены в большей степени увеличением активности GLU и в меньшей — ACE. Среди пациенток постменопаузального возраста значимых отличий по ферменту GLU и ACE не выявлено. При оценке лизосомальной активности ферментов в ткани эндометрия у женщин репродуктивного возраста и в переходном периоде выявлено увеличение общей активности лизосомных ферментов по GLU, а в постменопаузе — тенденция к их снижению. Учитывая повышенную проницаемость лизосомальных мембран (по ферменту GLU) в эндометрии у женщин с ГПЭ, можно предположить, что эти изменения создают предпосылки для усиления интенсивности пролиферативных процессов.

Данные, полученные в результате настоящего исследования, свидетельствуют о том, что наличие генов детоксикации и активности лизосомальных мембран при общей гипореактивности или гиперреактивности организма следует считать патогенетическими значимыми факторами риска развития ГПЭ в возрастном аспекте. Установлено, что в репродуктивном и, особенно, в переходном возрасте женщины с наличием «ослабленного» аллеля D гена GSTP1, «дикого» аллеля AA гена CYP1A1 и аллеля PLA1 гена GP-IIIa имеют предрасположенность к нарушению межклеточных контактов. Такое состояние становится фоновым для развития ГПЭ. Повышение

активности лизосомальных ферментов в плазме крови и лизосомальных мембранах эндометрия по GLU создает благоприятные условия для пролиферации эндометриальной ткани, имплантации и инвазии эндометриальных клеток. Далее включается иммунная система, которая отвечает гиперреактивностью.

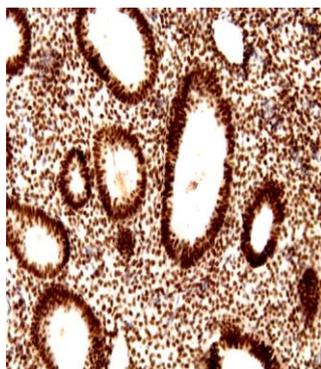
В постменопаузе женщины с наличием «ослабленного» аллеля D гена GSTP1, «дикого» аллеля AA гена CYP1A1 и аллеля PLAI гена GP-IIIa, у которых в плазме крови снижена активность лизосомальных ферментов (GLU и ACE), предрасположены к развитию ГПЭ, при этом продукция эмбриотропных аутоантител понижена (гипореактивность).

Немаловажную роль в формировании ГПЭ наряду с нарушением гормонального гомеостаза играет состояние рецепторного аппарата эндометрия (ER и PR), его пролиферативного потенциала и апоптоза (Клинышкова Т.В., Фролова Н.Б., Мозговой С.И., 2010). Gallos I.D., Devey J., Ganesan R. (2013) выявили, что подавление уровней экспрессий ER и PR ассоциировано с персистенцией ГПЭ, а также с уровнем маркера апоптоза Bcl-2. Sun L., Wang J., Zhang L. (2013) заключили, что ER можно считать важным биомаркером для диагностики, прогнозирования и выбора тактики лечения и профилактики РЭ. Авторами было установлено, что экспрессия ER значительно ниже в ткани при РЭ, чем при атипичической ГЭ и в гиперплазированном эндометрии.

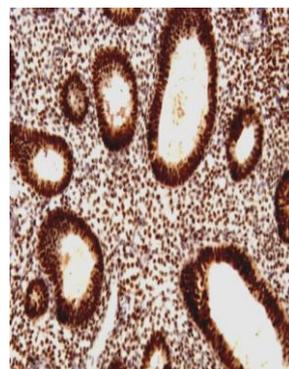
Иммуногистохимическое исследование эндометрия у 180 женщин с ГПЭ в репродуктивном (n=64) и переходном (n=116) возрасте позволило установить особенности экспрессии ER и PR при ГПЭ в возрастном аспекте. Оценку уровня стероидных рецепторов проводили как в эпителии желез, так и строме эндометрия (Рисунок 7).

Чувствительность эндометрия к ER у пациенток в репродуктивном возрасте представлена следующим образом: при электронной микроскопии в 72,7% эпителиальных клеток и в 58,3% ядер клеток стромы при ЖГЭ, и в 83,4% и 72,8% соответственно при ПЭ выявлено интенсивное окрашивание ядер в коричневый цвет. Результаты иммуногистохимической реакции на PR в репродуктивном возрасте оказались следующими: число ядер, экспрессирующих PR, в железистом эпителии при ГЭ составило 66,9%, в клетках стромы - 52,7%. Морфометрическое исследование железистых структур на PR при ПЭ выявило в 79,6% эпителиоцитов и 61,2% клеток стромы интенсивное окрашивание ядер в коричневый цвет.

В период менопаузального перехода число ядер, экспрессирующих ER в железистом эпителии при ГЭ, составило 42,9%, в клетках стромы - 58,1%. Морфометрическое исследование железистых структур на ER при ПЭ выявило в 40,3% эпителиоцитов и 32,4% клеток стромы интенсивное окрашивание ядер в коричневый цвет. Число ядер, экспрессирующих PR, в железистом эпителии при ГЭ составило 36,9%, а в клетках стромы - 53,2%, при ПЭ - 42,3% и 51,9% соответственно. Экспрессия ER и PR, выявленная при АГЭ, характеризовалась мозаичной



Экспрессия ER
(гиперплазия эндометрия)



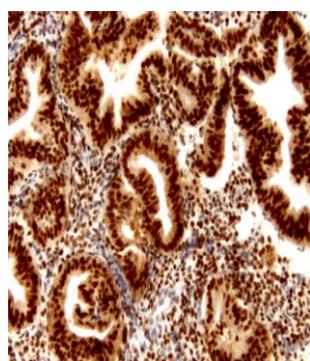
Экспрессия PR
(гиперплазия эндометрия)



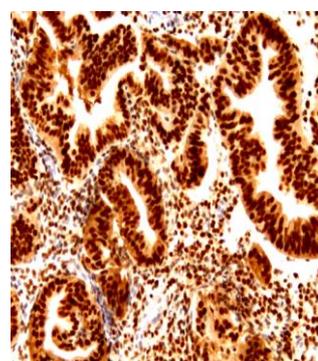
Экспрессия ER
(полип эндометрия)



Экспрессия PR
(полип эндометрия)



Экспрессия ER (атипическая
гиперплазия эндометрия)



Экспрессия PR (атипическая
гиперплазия эндометрия)

Рисунок 7 — Экспрессия стероидных рецепторов (ER и PR) при ГПЭ

картиной за счет обеднения (вплоть до полного опустошения) ядер эпителия отдельных желез и клеток стромы в отношении окрашивания, что указывало на снижение экспрессии рецепторов как в репродуктивном, так и перименопаузальном возрасте.

Для оценки достоверности полученных результатов было решено провести пересчет экспрессии ER и PR в ядрах клеток эпителия желез и стромы исследуемых биоптатов эндометрия по методу гистологического счета H-score. При сравнении уровня рецепторов в эпителии желез эндометрия на основании подсчета иммуногистохимического индекса (H-score) установлено, что

в репродуктивном возрасте средний уровень ER в эпителии желез составляет 248,1 балла и достоверно выше, чем в период менопаузального перехода (208,5 балла); средний уровень PR — 245,3 и 203,2 балла соответственно. При оценке равномерности распределения рецепторов в эпителии желез эндометрия было выявлено, что у 68,5% женщин в репродуктивном и у 44,8% в перименопаузальном возрасте имело место нерегулярное распределение метки ER и/или PR, вплоть до их полного исчезновения. При этом наибольшее число «рецептор-негативных» зон (78,1% в репродуктивном и 41,6% в перименопаузальном) приходилось на ER.

Таким образом, при ГПЭ наблюдали снижение уровня ER в железистом компоненте в репродуктивном возрасте и снижение ER и PR в перименопаузе, что сопровождалось дефектами распределения рецепторов в обеих группах.

При оценке экспрессии рецепторов в строме эндометрия при ГПЭ выявлено, что в репродуктивном возрасте экспрессия ER составила 246,1 балла, экспрессия PR - 208,5 балла. В перименопаузальном возрасте уровни ER и PR у пациенток оказался достоверно ниже, чем в репродуктивном (соответственно 214,3 балла и 202,8 балла, $p < 0,05$). Из этого следует, что уровень рецепторов в строме эндометрия при ГПЭ характеризуется снижением ER, подобно состоянию ER в эпителии желез эндометрия. Вместе с тем установлено, что количество PR не имеет достоверных различий между группами.

При сравнительном анализе рецепторов в эпителии желез и клетках стромы при ГПЭ в возрастном аспекте выявлено, что экспрессия PR статистически значимо превышает экспрессию ER как в репродуктивном, так и в перименопаузальном возрасте. Соотношение уровней экспрессии ER/PR в норме (по данным Т.В. Клинышковой, Н.Б. Фроловой, С.И. Мозговой, 2010) соответствует 1,0 в эпителии желез и 0,9 в клетках стромы. При ГПЭ в репродуктивном возрасте этот показатель соответствовал норме (1,0) и увеличивался до 1,2 (при норме 0,9) в клетках стромы, в перименопаузальном возрасте он составил 1,03 и 1,1 соответственно.

Таким образом, содержание рецепторов гормонов при ГПЭ характеризовалось преобладанием уровня PR относительно ER как в репродуктивном, так и в перименопаузальном возрасте. При этом различия в отношении PR как в железах, так и в строме достоверны. Это наблюдение соответствует представлениям о развитии относительной гиперэстрогении у женщин перименопаузального возраста. Анализируя экспрессию рецепторов к стероидным гормонам в зависимости от нозологической формы заболевания, следует отметить, что ЖГЭ и ПЭ характеризовались умеренной экспрессией рецепторов, в то время как при АГЭ отмечена низкая экспрессия рецепторов как к эстрогену, так и к прогестерону.

Одним из основных маркеров пролиферативной активности является Ki67, кодирующий одноименный белок. Белок Ki67 участвует в митотическом делении и является маркером пролиферации клетки. Однако наряду с проонкогенами имеются гены-антионкогены,

продуцирующие белки, ингибирующие пролиферацию клеток и тем самым оказывающие понижающее регулирующее действие на пролиферацию. Одним из антионкогенов является ген p53, кодирующий ядерный белок, модулирующий экспрессию генов, отвечающих за репарацию ДНК, и способствующий апоптозу клеток. Последствия недостаточности p53 - нестабильность хромосом и высокий риск малигнизации клеток. Указанные предпосылки явились основанием для определения продуктов генов Ki67 и p53 в клетках эндометрия у пациенток, находящихся в репродуктивном и перименопаузальном возрасте и имеющих различные формы ГПЭ.

Согласно данным Shevra C.R., Ghosh A., Kumar M. (2015), в ткани больных РЭ имеет место более высокая экспрессия Ki-67 по сравнению с простой ГЭ и пролиферативным эндометрием, однако отсутствует существенная разница между показателями экспрессии Ki-67 в ткани при РЭ и атипической ГЭ.

В ходе настоящего исследования при иммуногистохимической оценке маркера пролиферации Ki67 в репродуктивном возрасте (Рисунки 8–9) была обнаружена слабая экспрессия гена в ядрах эпителия желез и в строме при ЖГЭ и ПЭ и высокая экспрессия белка в эпителии желез и в строме при АГЭ.

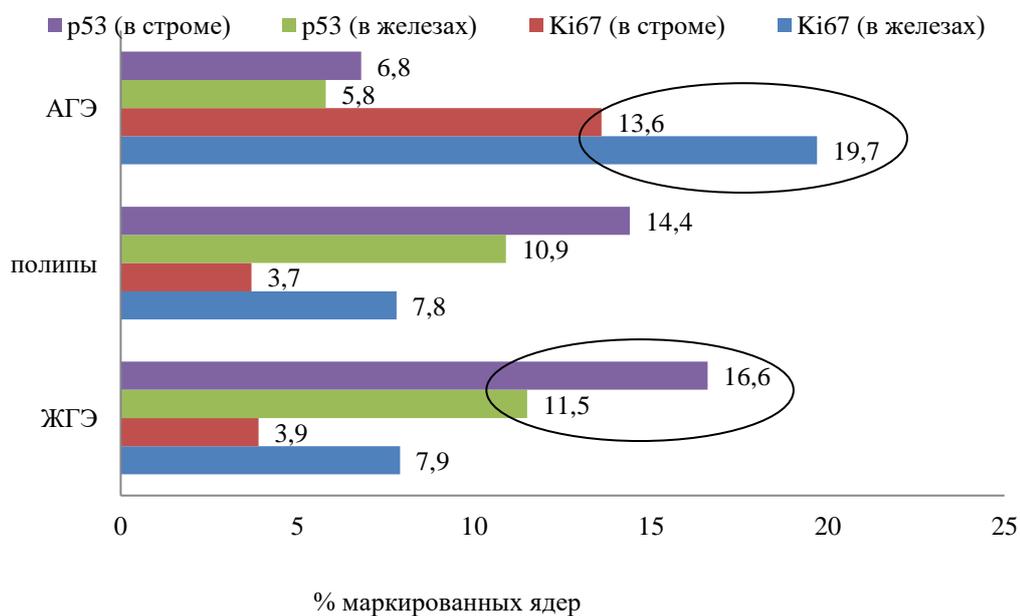


Рисунок 8 — Экспрессия про- и антионкогенных белков в клетках эндометрия женщин репродуктивного возраста

Уровень стероидных рецепторов оценивали в корреляции с маркером пролиферации Ki67. В репродуктивном и особенно в перименопаузальном возрасте выявлена отрицательная корреляционная связь между ER и PR и Ki67 в эпителии желез и строме эндометрия при железисто-кистозной ($r=-0,68$; $p=0,02$) и АГЭ ($r=-0,71$; $p=0,02$).

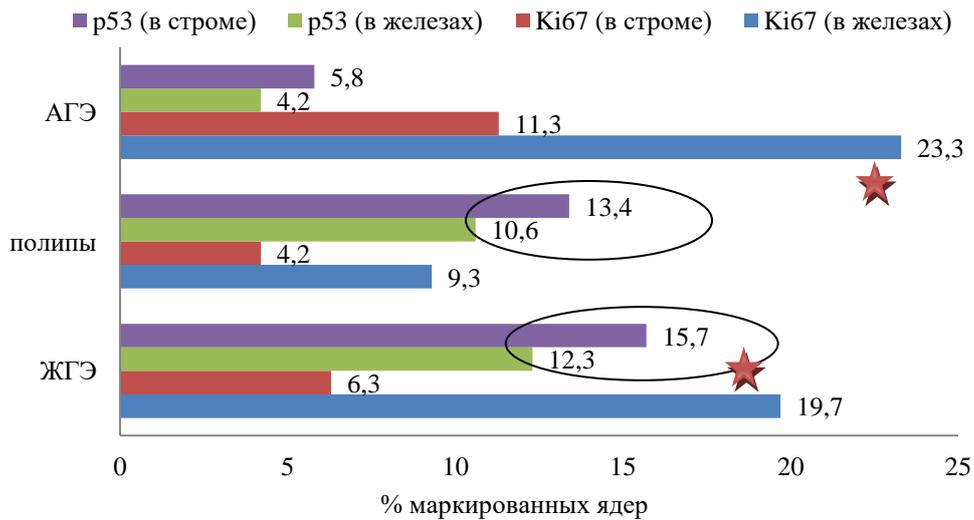


Рисунок 9 — Экспрессия про- и антионкогенных белков в клетках эндометрия женщин перименопаузального возраста

При ПЭ как в репродуктивном, так и перименопаузальном возрасте взаимосвязи между пролиферацией и уровнями ER и PR не найдено, что не исключает появления своего рода автономности пролиферативного процесса в эндометрии.

Таким образом, результаты исследования экспрессии проонкогенного белка Ki67 свидетельствуют о высокой пролиферативной активности клеток эндометрия, находящихся в состоянии АГЭ и ЖГЭ ($p < 0,05$), в то время как при ПЭ этот показатель менее выражен. Число интенсивно окрашенных ядер клеток эпителия желез при АГЭ в 2,5 раза, а клеток стромы - в 2,7 раза выше, чем при ПЭ, при ЖГЭ - в 2,1 и в 1,5 раза соответственно. Однако по экспрессии маркера пролиферации Ki67 значимых различий между группами больных репродуктивного и перименопаузального возраста не обнаружено. В перименопаузальном возрасте выявлена высокая экспрессия белка пролиферации Ki67 в железах эпителия при АГЭ.

Иммуногистохимическая оценка гена p53 в репродуктивном и перименопаузальном возрасте свидетельствует о достоверно высокой экспрессии гена у больных с ЖГЭ и ПЭ и слабой - при АГЭ. На основании полученных данных можно предположить, что при ЖГЭ и ПЭ отмечена небольшая компенсаторная активация апоптоза, которая заметно угасает при АГЭ.

Koi С., Nachisuga Т., Murakami М. (2015), исследовав ткань эндометрия у 82 женщин постменопаузального возраста, пришли к выводу, что гиперэкспрессия p53 и Ki-67 ответственна за высокий пролиферативный потенциал эндометриальных клеток в постменопаузе в условиях низкого уровня апоптоза. Наши исследования подтверждают результаты, полученные этими авторами, показавшими, что гиперэкспрессия p53 (12,6% маркерных ядер) и Ki-67 (11,8% маркерных ядер) в репродуктивном и особенно в перименопаузальном возрасте (11,6% и 17,4%

маркерных ядер соответственно) связана с высокой пролиферативной активностью эндометриальных клеток в условиях низкого уровня апоптоза.

Таким образом, результаты проведенных иммуногистохимических исследований позволяют углубить существующие представления о патогенезе ГПЭ. Установлено, что при ГПЭ снижение уровня ER в железистом компоненте в репродуктивном, а также ER и PR — в перименопаузальном возрасте сопровождается дефектами распределения рецепторов: преобладанием уровня PR относительно ER. При этом различия в отношении PR как в железах, так и в строме одинаково достоверны. Экспрессия рецепторов к стероидным гормонам в зависимости от нозологической формы заболевания при ЖГЭ и ПЭ характеризуется умеренной экспрессией рецепторов, в то время как при АГЭ — низкой экспрессией рецепторов как к эстрогену, так и к прогестерону.

Выявленная положительная корреляционная связь между ER и PR с p53 и отрицательная с Ki67 в эпителии желез и строме эндометрия при ЖГЭ и АГЭ подтверждают высокий риск развития онкологической трансформации эндометрия, позволяют прогнозировать возможность рецидивирования и оптимизировать лечебную тактику у пациенток репродуктивного и перименопаузального возраста.

Выявленные генетические, иммунологические и иммуногистохимические детерминанты явились основой для создания достоверной математической модели прогнозирования развития ГПЭ в возрастном аспекте (Таблица 5).

При проверке построенной модели прогнозирования развития ГПЭ в возрастном аспекте на основании молекулярно-генетических детерминант в репродуктивном возрасте чувствительность составила 92,2%, специфичность 86,2%, точность 91,1%, в переходном периоде – соответственно 91,3%, 89,5% и 91,9%, в постменопаузальном – соответственно 94,9%, 79,2% и 91,9%.

Таким образом, патогенетической моделью прогнозирования ГПЭ независимо от возраста (общая модель: чувствительность 93,6%, специфичность 85,1%, точность 92,3%) является определение:

- эмбриоспецифических аутоантител, регулирующих процессы пролиферации клеток;
- генетических детерминант: мутантного аллеля GSTPI, приводящего к снижению защитных свойств клетки и мутантного аллеля AG гена CYP1A1, приводящего к избыточной пролиферативной активности клеток-мишеней;
- маркера пролиферативной активности Ki67 в строме и железах эндометрия и антионкогена p53, модулирующего экспрессию генов, отвечающих за репарацию ДНК и способствующего апоптозу клеток (следствие недостаточности p53 — нестабильность хромосом и высокий риск малигнизации клеток).

Таблица 5 — Факторы, вошедшие в модель прогнозирования риска ГПЭ в возрастном аспекте

Коэффициент В	Репродуктивный возраст	Период менопаузального перехода	Постменопауза	Общая модель
Свободный коэффициент	-6,83	-5,12	-3,28	-8,33
Возраст				0,15
Наличие аллелей в гене GSTP1 (кодировка аллелей AA-1 AB-2 AC-3 BB-4 BC-5)	2,14	1,12	1,85	2,14
Наличие аллелей в гене CYP1A1 (кодировка аллелей AA-1 AG-2 GG-3)	1,29	0,91	0,55	1,30
Экспрессия Ki67 в железах эндометрия	2,67	0,52		
Экспрессия Ki67 в строме эндометрия	1,85	0,94		
Экспрессия P53 в железах эндометрия	-1,03	-1,17		0,94
Экспрессия P53 в строме эндометрия	-1,62	-1,52		1,35
Пониженная продукция эмбриотропных аутоантител			2,16	
Чувствительность	92,2	91,3	94,9	93,6
Специфичность	86,2	89,5	79,2	85,1
Точность	91,1	91,0	91,9	92,3

Для прогнозирования у пациенток риска АГЭ с помощью бинарного логистического регрессионного анализа была построена достоверная ($\chi^2=21,17$, $p<0,001$) модель (Таблица 6). Установлено, что патогенетической моделью прогнозирования АГЭ независимо от возраста (общая модель: чувствительность 91,7%, специфичность 90,5%, точность 91,4%) являются:

- клинико-anamнестические факторы (ИМТ, эндокринные заболевания, гинекологические заболевания - АМК, рецидивирующие ГПЭ, миома матки, ДДМЖ);
- определение эмбриоспецифических аутоантител, регулирующих процессы пролиферации клеток;
- определение гена гликопротеина GP-IIIa;
- иммуногистохимический метод определения чувствительности эндометрия к эстрогенам (ER) и прогестерону (PR) с использованием антител ER и PR.

Выявлено, что прогностическая ценность показателей уровня экспрессии ER в эпителии желез составляет $AUC=0,928\pm 0,1$. Чувствительность метода достигает 87,37%, специфичность - 86,21%, пороговое значение cut off = 167,6. Для показателей ER в эндометриальной строме

Таблица 6 — Модель для прогнозирования у пациенток с ГПЭ риска АГЭ

Показатель Коэффициент В	Репродуктивный период	Пременопаузальный период	Постменопаузальный период	Общая модель
Свободный коэффициент	-9,027	-5,69	-9,14	-7,12
Возраст				3,15
ИМТ	2,041	1,17	2,21	
Аномальные маточные кровотечения без структурных изменений матки	1,16	0,9		0,84
Воспалительные заболевания гениталий	2,83	1,17	1,09	1,33
Лечебно-диагностические выскабливания	3,14	2,14	0,9	0,90
Рецидивирование ГПЭ	2,09	1,17	1,89	1,06
Межменструальные кровянистые выделения из половых путей	1,62			
Заболевания органов мочевой системы	0,65			
Заболевания нервной системы	0,13			
Заболевания эндокринной системы	0,49	1,13	1,26	2,16
Заболевания сердечно-сосудистой системы	0,65	0,47	1,19	0,21
Менархе после 14 лет	0,82	0,94	1,16	0,39
Нарушения менструального цикла (менометроррагии)	-2,14	-1,12		-0,17
Доброкачественные заболевания шейки матки	-1,69	-0,39		-0,14
ДДМЖ	0,46	1,03		-0,15
Миома матки	-0,98			-1,15
ген гликопротеина GP-IIIa (AIAI)		1,89		2,14
ген гликопротеина GP-IIIa (AIAII)	-0,08		1,12	0,15
Иммунореактивность (гипореактивность или гиперреактивность)	2,52	4,23	3,31	2,55
Рецепторы к эстрогенам в строме (H-score, баллы)	3,15	2,14	1,50	
Рецепторы к эстрогенам железы (H-score, баллы)	2,09			
Рецепторы к прогестерону стромы (H-score, баллы)	1,12			
Чувствительность	92,2	88,9	81,4	91,7
Специфичность	80,4	84,0	81,8	90,5
Точность	89,1	87,8	81,5	91,4

AUC=0,857±0,1. Чувствительность и специфичность этого метода в области порогового значения оказалась равна 85,4% и 72,41% соответственно, пороговое значение cut off=123,3.

Площадь под ROC-кривой экспрессии PR в эпителии желез составила AUC=0,902±0,1. Пороговое значение в точке cut off=199,00 (H-score, баллы). Проведенный анализ показал, что

чувствительность и специфичность метода составили соответственно 82,93% и 93,1%; в эндометриальной строме $AUC=0,901\pm 0,1$ точка cut off=70. Чувствительность и специфичность метода - 85,37% и 86,21% соответственно.

Важным этапом оценки прогностической способности клинических методов исследования в диагностике структурных изменений эндометрия послужило построение ROC-кривых, оценивающих уровень экспрессии биомолекулярного маркера пролиферации Ki-67 и маркера апоптоза p53. ROC-кривая в отношении биомолекулярного маркера пролиферации Ki-67 составила для показателей в эпителии желез - $0,924\pm 0,1$, в строме эндометрия - $0,892\pm 0,1$. Чувствительность и специфичность метода составили для показателей в эпителии желез - 90,24% и 86,21% соответственно, пороговое значение cut off=7, для показателей в эндометриальной строме - 92,68% и 79,31% соответственно, cut off=2,75.

В результате ROC-анализа выявлено, что определение уровня экспрессии маркера апоптоза p53 обладает высокой диагностической ценностью. Чувствительность и специфичность метода составили для эпителии желез - 85,37% и 86,21% соответственно, cut off=3,6; для показателей в эндометриальной строме - 90,24% и 86,21% соответственно, точка cut off=2,5.

На основании результатов проведенного ROC-анализа уровня экспрессии ER (в эпителии желез -167,6, в строме эндометрия - 123,3), PR (199 и 70 соответственно), пролиферативной активности Ki-67 (7,05 и 2,75% маркерных ядер соответственно), активности маркера апоптоза p53 (3,6 и 2,55% маркерных ядер соответственно), данные значения были приняты за пороговые в качестве маркеров прогнозирования развития ГПЭ и персонализации выбора лечебной тактики у пациенток репродуктивного и в период менопаузального возраста.

Аналогичная математическая модель прогнозирования риска прогрессирования ГПЭ и злокачественной трансформации освещена в работе Власова Р.С. (2011), однако в предложенном автором варианте молекулярными критериями прогнозирования служили только эпигенетические нарушения, в частности, процесс метилирования генов-супрессоров опухолевого роста. Кроме того, контингент исследованных больных был исключительно репродуктивного возраста. Математическая модель для морфологической диагностики была представлена в работе Горчаковой Л.В. (2008), но в проведенном ею исследовании не были учтены клинические факторы риска.

С нашей точки зрения, выбор молекулярно-биологических критериев прогнозирования, отражающих процессы патологической пролиферации (Ki-67), межклеточных связей и опухоле-супрессорной функции с регуляцией процессов клеточного деления и апоптоза (P-53), определение полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (антиоксидантной защиты) и гена межклеточных взаимодействий являются наиболее информативными, что также подтверждается данными литературы относительно изолированной

роли этих показателей в онкогенезе (Sun L., Wang J., Zhang L., 2013; Koi C., Nachisuga T., Murakami M., 2015; Shevra C.R., Ghosh A., Kumar M., 2015). Мы полагаем, что на современном этапе определяющее значение в выборе лечебной тактики должно иметь морфологическое заключение, подкрепленное данными молекулярно-биологических исследований, которые нивелируют возможную ошибку патоморфолога при оценке степени тяжести тех или иных морфологических изменений, а также в ряде случаев опережают эти изменения.

Полученные результаты исследования позволяют сделать основной вывод, что на современном этапе развития науки в алгоритм диагностики ГПЭ должны входить методы, позволяющие прогнозировать в каждой возрастной группе степень риска прогрессирования ГПЭ и онкотрансформации эндометрия, в частности, определение генов детоксикации и межклеточных взаимоотношений, иммунореактивности, уровня иммуногистохимических маркеров (Рисунок 10).

С целью оценки эффективности предложенного алгоритма ранней диагностики и прогнозирования ГПЭ, разработанного в ходе настоящего исследования, проведена его валидизация на независимой выборке, которую составили 240 пациенток с верифицированным диагнозом ГПЭ, отобранных «слепым» методом, и поделенных на две равные группы в зависимости от использования разработанного модифицированного алгоритма ($n=120$) или использования рутинной тактики ведения пациенток ($n=120$).

В ходе валидизации предложенного алгоритма было установлено, что сравниваемые группы сопоставимы ($p=0,815$) по возрасту, который в обеих группах колебался от 35 до 51 года. Средний возраст составил в основной группе $41,5\pm 3,9$ года (95% ДИ: 40,7–42,2 года), в контрольной — $41,3\pm 4,3$ года (95% ДИ: 40,6–42,1 года). С помощью статистического анализа (таблиц дожития) было проведено изучение безрецидивного периода пациенток с ГПЭ от момента окончания назначенного лечения в зависимости от применяемого диагностического алгоритма. Полученные результаты отражены в Таблице 7.

Согласно полученным данным, отсутствие рецидивов в течение года при использовании традиционного диагностического алгоритма для определения лечебной тактики наблюдали у 76,0% пациенток с ГПЭ, тогда как применение модифицированного диагностического подхода позволило добиться того, что в течение года рецидивы не были зафиксированы у 97,6% пациенток ($p<0,05$).

Через два года наблюдения за пациентками с ГПЭ доля безрецидивного течения заболевания составила в основной группе 73,7%, в группе контроля — 47,9% ($p<0,05$). Среднее время безрецидивного периода при использовании усовершенствованного диагностического алгоритма достигало $21,3\pm 0,4$ мес (95% ДИ: 20,5–22,1 мес), в случае традиционной диагностики — $18,5\pm 0,9$ мес (95% ДИ: 16,7–20,2 мес). Различие оказалось достоверным ($p<0,05$).

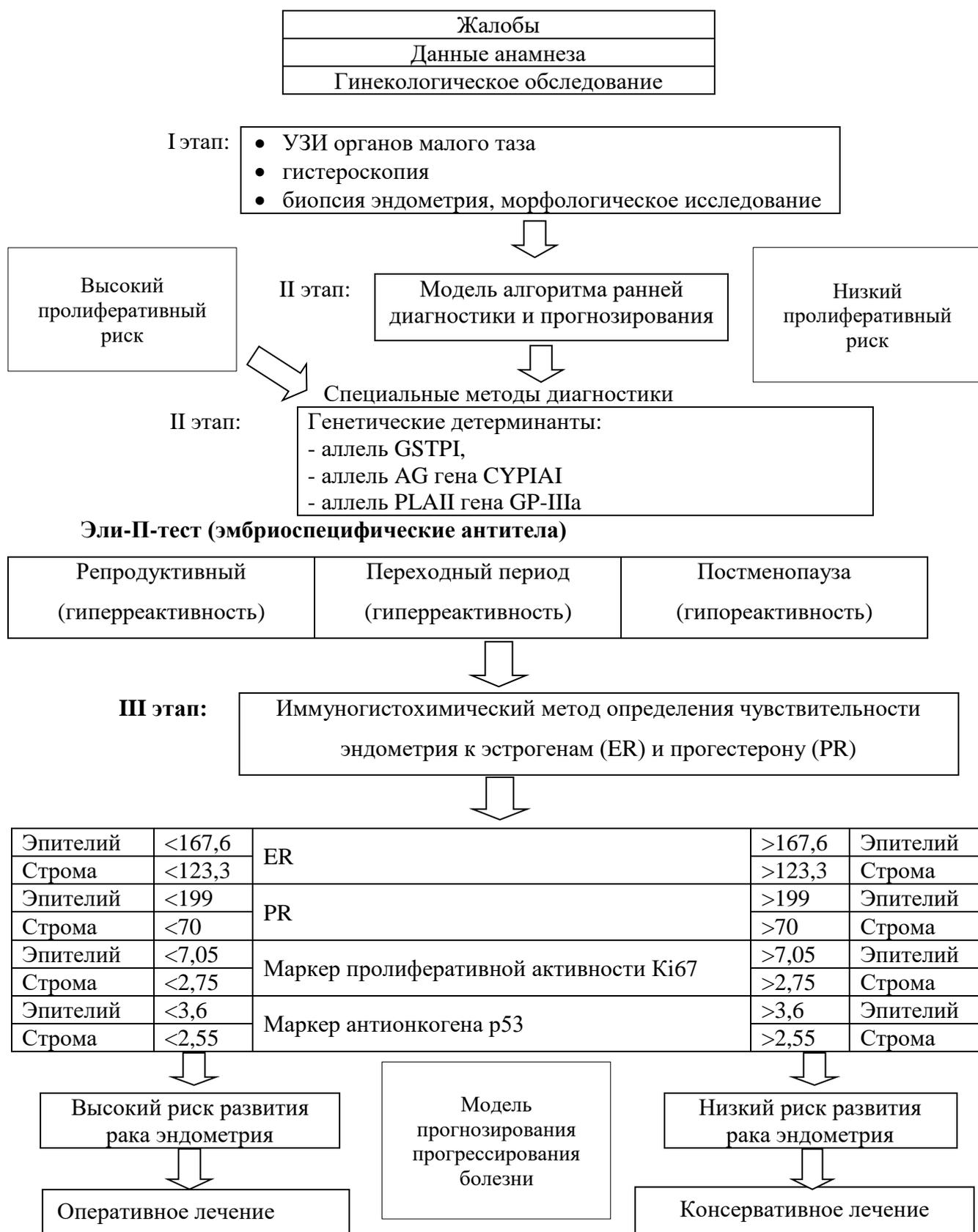


Рисунок 10 — Алгоритм ранней диагностики и прогнозирования ГПЭ

При сравнительном анализе безрецидивного периода между группами с помощью лог-ранк критерия Мантеля-Кокса также были установлены статистически значимые различия ($p=0,006$).

Таблица 7 — Сравнительная оценка безрецидивного периода пациенток с ГПЭ в зависимости от применяемого диагностического алгоритма

Сроки рецидивирования	Исследуемые группы		P
	Основная	Контрольная	
0–5 мес.	100,0%	93,1±3,0%	0,006*
6–11 мес.	97,6±1,7%	76,0±5,1%	
12–17 мес.	85,3±4,1%	69,2±5,7%	
18 мес. и дольше	73,7±6,4%	47,9±8,2%	

Примечание: * различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$)

Сравнительная оценка безрецидивного периода пациенток в обследованных группах выполнена на графике с помощью кривых дожития, построенных методом Каплана-Мейера (Рисунок 11).

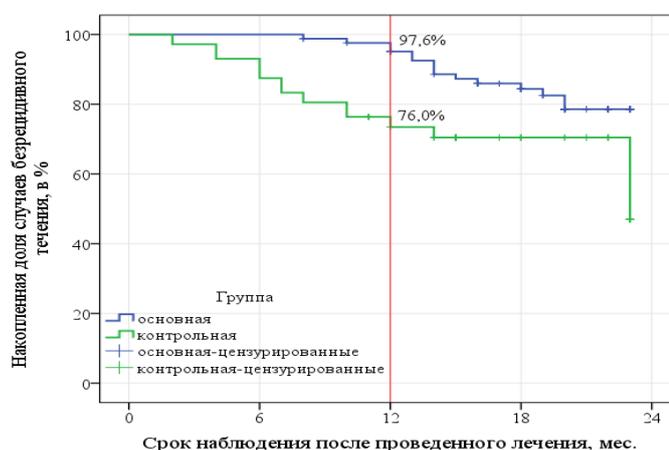


Рисунок 11 — Безрецидивный период пациенток с ГПЭ после лечения в зависимости от применяемого диагностического алгоритма

Вместе с тем влияние выбранного диагностического алгоритма на безрецидивный период после проведенного лечения было оценено с помощью статистического метода регрессии Кокса. Полученная в итоге модель пропорциональных рисков рецидива ГПЭ характеризовалась значением критерия χ^2 , равным 7,27, что при количестве степеней свободы $f=1$ соответствовало уровню значимости $p=0,007$. Согласно рассчитанному показателю ОШ, вероятность рецидива ГПЭ при использовании усовершенствованного диагностического алгоритма оказалась ниже в 2,3 раза (95% ДИ: 1,24-4,41).

Далее была проведена оценка безрецидивной выживаемости в зависимости от применяемого диагностического алгоритма в разрезе отдельных форм ГПЭ. Полученные данные об одно- и двухгодичной частоте случаев безрецидивного течения сопоставлены в Таблице 8.

В ходе настоящего исследования были установлены статистически значимые различия безрецидивного течения в зависимости от применяемого диагностического алгоритма при

оказании медицинской помощи пациенткам с АГЭ ($p=0,036$). Отсутствие рецидивов в течение года наблюдали у 95,7% пациенток основной группы, 69,4% пациенток группы контроля, а в течение двух лет - у 59,1% и 45,3%, соответственно. Средний срок безрецидивного течения АГЭ в случае использования усовершенствованного алгоритма составлял 19,7 мес., а при традиционном диагностическом подходе был существенно ниже (15,4 мес., $p<0,05$).

Таблица 8 — Сравнительный анализ продолжительности безрецидивного периода пациенток с ГПЭ (в %) в зависимости от применяемого диагностического алгоритма

Форма ГПЭ	Срок наблюдения	Исследуемые группы		Р
		Основная	Контрольная	
ЖГЭ	12 мес.	100,0%	60,7±9,2%	0,103
	24 мес.	66,4±2,5%	60,7±9,2%	
	М±m (95% ДИ)	21,0±0,7 (19,6-22,3)	16,6±1,5 (13,7-19,6)	
ПЭ	12 мес.	96,8±3,2%	100,0%	0,294
	24 мес.	89,6±7,5%	53,8±13,8%	
	М±m (95% ДИ)	22,3±0,5 (21,4-23,3)	23,0**	
АГЭ	12 мес.	95,7±4,2%	69,4±10,4%	0,036*
	24 мес.	59,1±15,5%	45,3±11,9%	
	М±m (95% ДИ)	19,7±0,8 (18,1-21,3)	15,4±1,8 (12,0-18,9)	

Примечание: * различия между группами статистически значимы ($p<0,05$)
 ** значение является константой

Кривые частот случаев безрецидивного течения АГЭ в зависимости от применяемого диагностического алгоритма сопоставлены на Рисунке 12.

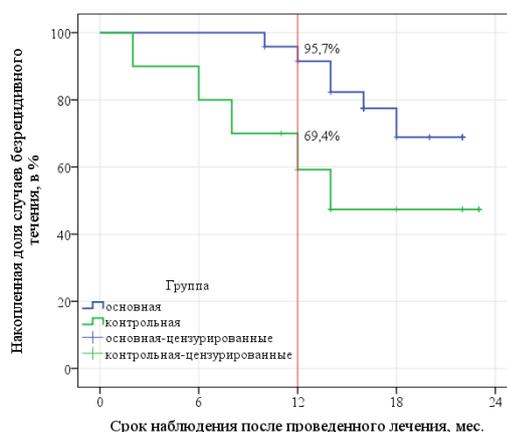


Рисунок 12 — Сравнительный анализ безрецидивного периода пациенток с АГЭ после лечения, в зависимости от применяемого диагностического алгоритма

В случае ЖГЭ и ПЭ различия частоты безрецидивного течения были не столь выражены, в связи с чем оказались статистически не значимыми ($p>0,05$).

Наконец, в ходе исследования было проведено сравнение кратности рецидивов в зависимости от применяемого диагностического алгоритма. В основной группе в течение двухлетнего срока наблюдения рецидивы ГПЭ регистрировали в среднем в $1,67\pm 0,23$ наблюдениях, тогда как при использовании традиционного диагностического подхода средняя кратность рецидивов за 2 года составляла $4,52\pm 0,3$. При сравнении полученных показателей с помощью t-критерия Стьюдента выявлены статистически значимые различия ($p<0,001$).

Дополнительно была оценена структура исследуемых групп по частоте рецидивов за два года (Таблица 9).

Таблица 9 — Сравнительный анализ частоты рецидивов за двухлетний срок наблюдения

Частота рецидивов за 2 года	Исследуемые группы				P
	основная		контрольная		
	Абс.	%	Абс.	%	
1	8	53,3	3	6,8	<0,001*
2	5	33,3	9	20,5	
3 и более	2	13,3	32	72,7	
Итого:	120	100,0	120	100,0	

Примечание: * различия показателей статистически значимы ($p<0,05$)

В соответствии с данными, представленными в Таблице 9, в основной группе более чем в половине наблюдений (53,3%) рецидивы отмечали не более 1 раза в течение 2 лет наблюдения. В группе контроля частота однократного рецидивирования ГПЭ составляла всего 6,8%, при этом в 72,7% случаев рецидивы заболевания отмечали в 3 и более случаев за 2 года. Различия структуры сравниваемых групп по частоте рецидивов ГПЭ были статистически значимыми ($p<0,001$).

Полученные в результате анализа качества жизни пациенток через год после лечения представлены в Таблице 10.

Таблица 10 — Сравнение показателей качества жизни пациенток по данным опросника SF-36 в зависимости от используемого диагностического алгоритма

Показатели качества жизни по данным SF-36	Исследуемые группы				P
	основная		контрольная		
	М±σ	95% ДИ	М±σ	95% ДИ	
Физический компонент здоровья (PH)	66,4±7,1	65,1-67,7	58,2±9,2	56,6-59,8	<0,001*
Психологический компонент здоровья (MH)	73,1±9,3	71,4-74,8	61,4±9,9	59,6-63,2	<0,001*

Примечание: * различия показателей статистически значимы ($p<0,05$)

Согласно полученным данным, в зависимости от применяемого диагностического алгоритма в сравниваемых группах были достигнуты достоверно различающиеся показатели качества жизни по данным опросника SF-36 ($p < 0,001$). Так, средний уровень физического компонента здоровья составил при использовании усовершенствованного алгоритма $66,4 \pm 7,1$, при традиционной диагностике был существенно ниже ($58,2 \pm 9,2$). Среднее значение психологического компонента в основной группе составило $73,1 \pm 9,3$, что было существенно выше показателя контрольной группы ($61,4 \pm 9,9$).

Таким образом, в ходе настоящего исследования установлено существенное улучшение по сравнению с традиционным диагностическим алгоритмом показателей медицинской эффективности благодаря внедрению в практику разработанного алгоритма ранней диагностики и прогнозирования ГПЭ. Это заключалось в статистически значимом укорочении сроков до оперативного вмешательства по показаниям, снижении частоты случаев развития онкотрансформации на фоне ГПЭ, увеличении продолжительности безрецидивного периода и сокращении числа рецидивов в течение двухлетнего срока наблюдения, а также в улучшении качества жизни пациенток как по физической, так и по психологической составляющей.

Результаты оценки экономической эффективности предложенного алгоритма ранней диагностики и прогнозирования ГПЭ из расчета на 100 пациенток и на 1 пациентку при использовании различных диагностических алгоритмов приведены в Таблице 11.

Таблица 11 — Расчет стоимости диагностики и лечения ГПЭ при использовании традиционного и усовершенствованного диагностического алгоритма (ДА)

Показатель	Диагностический алгоритм			
	Традиционный		Усовершенствованный	
	на 100 пациенток	на 1 пациентку	на 100 пациенток	на 1 пациентку
Увеличение стоимости диагностики, руб.	0,00	0,00	1 550 000,00	15 500,00
Среднее число рецидивов, случаев	452	4,52	167	1,67
Стоимость лечения рецидива, руб.	5 785 600,00	57 856,00	2 137 600,00	21 376,00
Экономическая эффективность на 1 пациентку, руб.	$ЭЭ_1 = 57856 - (21376 + 15500) = 20\,980,00$			
Экономическая эффективность на 100 пациенток, руб.	$ЭЭ_{100} = 20980 * 100 = 2\,098\,000,00$			

Исходя из представленных расчетов, средние затраты на 1 пациентку с ГПЭ при использовании разработанного диагностического алгоритма увеличиваются за счет прироста стоимости диагностики на 15 500 рублей, однако благодаря значительному снижению числа рецидивов стоимость лечения в течение 2 лет снижается на 36 480 рублей. Разница этих значений обуславливает достигнутый уровень экономической эффективности, составляющий

экономленные 20 980 рублей из расчета на 1 пациентку с ГПЭ. При сопоставлении объемов денежных средств, затрачиваемых на оказание медицинской помощи при ГПЭ из расчета на 1 пациентку, в случае использования усовершенствованного алгоритма показатель составил 36 876 рублей. По сравнению с аналогичными затратами при использовании традиционного диагностического алгоритма (57 856 рублей), они оказались ниже на 36,3% ($p < 0,05$).

Уровень экономической эффективности, достигаемой благодаря внедрению усовершенствованного алгоритма диагностики ГПЭ, может быть еще выше, если принимать во внимание значительное снижение вероятности случаев аденокарциномы матки в результате своевременного лечения пациенток.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о возможности снижения затрат на оказание гинекологической помощи женщинам, страдающим ГПЭ. Использование предложенной технологии прогнозирования целесообразно не только с клинических позиций, что связано с увеличением безрецидивного периода на 15,1%, снижением вероятности рецидивов в 2,3 раза (95% ДИ: 1,24–4,41), но и с экономических, так как позволяет снизить на 36,3% затраты на ведение пациенток с ГПЭ за счет более быстрой и достоверной диагностики и дифференцированного выбора метода лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итоги настоящего исследования, можно утверждать, что на современном этапе алгоритм обследования пациенток с ГПЭ должен включать методы, позволяющие оценить степень тканевой пролиферации и прогнозировать риск прогрессирования ГПЭ и онкотрансформации эндометрия. Именно интегральный анализ данных клинического, морфологического и иммуногистохимического исследований, результатов оценки иммунореактивности и молекулярно-генетического тестирования дает результативную возможность ранней диагностики заболевания и прогнозировать его развитие и характер течения.

Предложенная концепция оценки степени риска прогрессирования ГПЭ и онкотрансформации эндометрия позволяет персонафицировать выбор метода лечения с учетом риска рецидивов и/или прогрессирования болезни. Высокая степень риска при ГПЭ в переходном возрасте и в постменопаузе является абсолютным показанием к гистерэктомии, при низкой и умеренной степени риска - допустимо применение гормональной терапии.

Полученные результаты позволяют сформулировать следующие **выводы**:

1. Предикторами возникновения ГПЭ, независимо от возраста женщин, являются болезни эндокринной системы, нарушения питания и обмена веществ (ОШ=36,6; 95% ДИ: 5,2–97,36); наличие двух и более прерванных беременностей в анамнезе (ОШ=8,5; 95% ДИ: 3,57–34,32);

доброкачественные заболевания шейки матки (ОШ=8,0; 95% ДИ: 2,28–25,71); выскабливания стенок полости матки и цервикального канала (ОШ=7,61; 95% ДИ: 1,94–19,04); перенесенные гинекологические заболевания [ВЗОМТ (ОШ=5,99; 95% ДИ: 2,08–12,73); аномальные маточные кровотечения (ОШ=3,13; 95% ДИ: 1,76–6,14); доброкачественные заболевания молочных желез (ОШ=4,81; 95% ДИ: 1,39–11,2)]; отягощённый семейный анамнез (ОШ=1,67; ДИ: 1,05–3,77). Разработанные математические модели прогнозирования позволяют формировать группы риска развития и прогрессирующего течения ГПЭ (диагностическая эффективность - 92,8%, чувствительность - 94,4%, специфичность - 84,4%).

2. Традиционные методы диагностики ГПЭ не обладают высокой чувствительностью и специфичностью и не являются достаточными для верификации диагноза, определения степени активности процесса и выбора персонифицированной тактики с учетом риска рецидивов и прогрессирования болезни. Диагностическая ценность УЗИ в репродуктивном возрасте составляет 64,8%, гистероскопии - 60,2%, их сочетания - 75,0%; в период менопаузального перехода - соответственно 68,8%, 80,9% и 86,1%; в постменопаузе - соответственно 74,7%, 84,8% и 88,9%.

3. Генетической составляющей патогенеза ГПЭ, независимо от возраста пациенток, служат полиморфизм гена детоксикации GSTP1 (увеличение мутантного аллеля GSTP1 D в 10 раз), гетерозиготное носительство мутации аллеля AG (62,8%) гена CYP1A1 и аллеля PLA1AII гена GP-IIIa (67,4%), повышающих предрасположенность к усиленной пролиферации. Частота выявления аллеля PLA1AII гена GP-IIIa у пациенток репродуктивного возраста составляет 35,7%, в переходном периоде - 34,6%, в постменопаузе - 33,4% ($p < 0,05$).

4. Нарушения надзорной функции иммунной системы у женщин изучаемой когорты выражаются в изменении продукции эмбриоспецифических аутоантител (гиперреактивность в репродуктивном и переходном периоде жизни и гипореактивность — в постменопаузе), регулирующих процессы пролиферации клеток. В репродуктивном возрасте нормореактивность наблюдается только у 9,7% пациенток, в период менопаузального перехода - у 4,3%, и не выявляется в постменопаузе.

5. Лизосомальные гидролазы N-ацетил-b-D-глюкозаминидазы (ACE) и b-D-глюкуронидазы (GLU) создают условия для пролиферации эндометрия и инвазии эндометриальных клеток в миометрий. В репродуктивном возрасте и в период менопаузального перехода нарушения целостности лизосомальных мембран лизосом и высвобождение кислых гидролаз обусловлены увеличением, а в постменопаузе - снижением степени активности GLU (в репродуктивном - $0,04 \pm 0,007$ нмоль/л, в переходном - $0,03 \pm 0,004$ нмоль/л, в постменопаузальном - $0,02 \pm 0,005$ нмоль/л ($p < 0,05$)). Удельная активность ACE в плазме крови не зависит от возраста пациенток и составляет при ПЭ $0,012 \pm 0,001$ нмоль/л, при ЖГЭ - $0,013 \pm 0,002$ нмоль/л и при АГЭ

- $0,012 \pm 0,001$ нмоль/л (в контрольной группе — $0,010 \pm 0,005$ нмоль/л).

6. Для пациенток изучаемой когорты с благоприятным фоном для развития неопластической трансформации во всех возрастных группах характерны дефекты распределения рецепторов в эндометрии: экспрессия эстрогеновых рецепторов ER в эпителии желез и строме эндометрия составляет 71,8% в репродуктивном возрасте, 52,7% - в переходном периоде и 43,5% - в постменопаузе, прогестероновых PR - соответственно 65%, 56,9% и 46,1%. В репродуктивном возрасте экспрессия ER в эпителии желез и строме эндометрия по H-score достигает 289 баллов, в период менопаузального перехода – 272 балла и в постменопаузе – 131,2 балла; экспрессия PR - соответственно 280, 220,4 и 140,1 балла. Соотношение ER/PR в репродуктивном периоде жизни составляет 1,04 в эпителии желез и 1,81 - в клетках стромы, в переходном периоде - соответственно 1,08 и 1,03, в постменопаузе - соответственно 0,81 и 1,05.

7. Молекулярными и клеточными патогенетическими детерминантами ГПЭ являются факторы пролиферации и апоптоза, что подтверждается достоверным ($p < 0,05$) повышением маркера пролиферации Ki67 в биоптатах эндометрия (клетки эпителия/стромы) с 11,8/7,1% у женщин репродуктивного возраста, до 16,5/7,0% — в период менопаузального перехода и до 17,4/7,2% - в постменопаузе, а также снижением маркера апоптоза p53 с 9,4/12,6% до 9,2/11,0 и до 9,0/11,6% соответственно.

8. Выявленная гиперэкспрессия p53 и Ki-67 (в репродуктивном возрасте - 22% и 18,9% маркерных ядер соответственно; в период менопаузального перехода - 20,2% и 23,5% маркерных ядер соответственно; в постменопаузе - 20,6% и 24,6% маркерных ядер) связана с высокой пролиферативной активностью эндометриальных клеток в условиях низкого уровня апоптоза.

9. В современных условиях алгоритм обследования пациенток с ГПЭ должен включать методы, позволяющие оценить степень пролиферативной активности тканей эндометрия. Использование комплекса, включающего определение состояния иммунореактивности, молекулярно-генетическое тестирование («ослабленный» аллель D гена GSTPI, «дикий» аллель AA гена CYP1A1, аллель A1AII гена GP-IIIa), исследование иммуногистохимических (ER и PR), пролиферативных биомолекулярных маркеров (Ki67 и p53) позволяет повысить точность диагностики (чувствительность - 95,7%, специфичность - 100%), с вероятностью 86% определить степень активности процесса и с точностью 88,9% прогнозировать течение ГПЭ.

10. Внедрение в клиническую практику предложенного алгоритма ранней диагностики и прогнозирования течения ГПЭ способствует снижению частоты рецидивов в 2,3 раза (ОШ=7,27; 95% ДИ: 1,24–4,41), позволяет снизить на 36,3% ($p < 0,05$) затраты на ведение пациенток с ГПЭ независимо от возраста (экономия 20 980 руб. на одну пациентку) за счет быстрой и достоверной верификации диагноза и персонализированного выбора лечебной тактики с учетом пролиферативного риска.

Полученные выводы позволяют сформулировать **практические рекомендации:**

1. Для прогнозирования развития и рецидивов ГПЭ, обоснования персонафицированной тактики ведения пациенток необходимо использовать предложенный алгоритм ранней диагностики и прогнозирования течения ГПЭ.

2. Всех пациенток при подозрении на ГПЭ, помимо УЗИ, офисной гистероскопии и биопсии эндометрия необходимо относить к группе низкого или высокого пролиферативного риска с помощью предложенных математических моделей.

3. В группе высокого пролиферативного риска для повышения точности диагностики и прогнозирования течения ГПЭ, морфологическое исследование необходимо дополнять комплексом иммуногистохимических исследований (экспрессия ER и PR в эпителии желез и строме эндометрия, уровень пролиферативных биомолекулярных маркеров Ki67, p53).

4. В комплекс обследования при ГПЭ, независимо от возраста, для доклинической диагностики и профилактики рецидивов необходимо включать определение генетических детерминант («ослабленный» аллель D гена GSTP1, «дикий» аллель AA гена CYP1A1, аллель A1A1 гена GP-IIIa) и состояния иммунореактивности (ЭЛИ-П-Тест).

5. При рецидивирующем течении ГПЭ у пациенток с нарушением иммунореактивности, у которых обнаружен дисбаланс уровня ER и PR, нарушения экспрессии маркера пролиферации Ki67 и маркера апоптоза p53, в связи с высоким риском онкотрансформации эндометрия необходимо своевременно решать вопрос об оперативном лечении (гистерэктомия).

Перспективы дальнейшей разработки темы обусловлены потенциальной возможностью фармакологического воздействия на основные звенья патогенеза ГПЭ. Перспективность разработки таргетных лекарственных средств настолько очевидна, что уже сейчас ученые всего мира заняты интенсивным поиском и апробацией препаратов, способных ингибировать пролиферацию и индуцировать апоптоз. Не вызывает сомнений факт, что данная группа препаратов в будущем займет одно из главных мест в арсенале средств медикаментозной противорецидивной терапии ГПЭ, а также профилактики онкотрансформации эндометрия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Войташевский, К.В. Состояние эндометрия у женщин с маточными кровотечениями в постменопаузе / К.В. Войташевский, И.М. Ордянец, С.Э. Аракелов // Научно-практич. конфер. военных гинекологов Московского региона: тез. докл. - Москва, 2003. - С.50–51.

2. Состояние эндометрия у женщин с климактерическим синдромом в постменопаузе до и в процессе заместительной гормонотерапии / Н.Ю. Прудникова, А.М. Гаспарян, И.М. Ордянец, С.Э. Аракелов // Мать и дитя: Матер. VI Росс. форума. - М., 2004. - С. 326–327.

3. Генетические детерминанты гинекологических и маммологических заболеваний у женщин репродуктивного возраста / С.Э. Аракелов, М.Л. Полина, В.Е. Радзинский, И.М. Ордиянц // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2005. - №4. - С. 132–138.

4. Мусаева, К.М., Иммуногенетические особенности фоновых и предраковых заболеваний шейки матки / К.М. Мусаева, С.Э. Аракелов, И.М. Ордиянц // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2005. - №4. - С. 139–147.

5. Роль гена GP-IIIa в рецидивировании гиперпластических процессов эндометрия у женщин пре- и постменопаузального возраста / С.Э. Аракелов, Н.Ю. Прудникова, И.М. Ордиянц, Н.В. Жилина // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2008. - №6. - С. 137–143.

6. Роль иммунореактивности и лизосомальных гидролаз ACE и GLU в эндометрии и плазме крови при рецидивировании гиперпластических процессов эндометрия у женщин в пре и постменопаузальном периоде / С.Э. Аракелов, Н.Ю. Прудникова, И.М. Ордиянц, Н.В. Жилина // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2008. - №6. - С. 149–158.

7. Факторы риска развития синдрома хронических тазовых болей у женщин репродуктивного возраста / В.Н. Багин, Е.А. Харламова, С.Э. Аракелов, Д.Г. Гаджимурадова [и соавт.] // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2008. - №5. - С. 216–219.

8. Аракелов, С.Э. Прогнозирование гиперпластических заболеваний у женщин постменопаузального возраста / С.Э. Аракелов, А.М. Гаспарян, И.М. Ордиянц // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2008. - №5. - С. 210–214.

9. Иммуногенетические особенности фоновых и предраковых заболеваний шейки матки / К.М. Мусаева, С.Э. Аракелов, И.М. Ордиянц, Н.Д. Плаксина [и соавт.] // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2008. - №5. - С. 209–214.

10. Генетические детерминанты гинекологических и маммологических заболеваний у женщин репродуктивного возраста / М.Л. Полина, С.Э. Аракелов, В.Е. Радзинский, И.М. Ордиянц // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2008. - №5. - С. 250–260.

11. Факторы рецидивирования гиперпластических процессов эндометрия у женщин пре- и постменопаузального возраста / С.Э. Аракелов, Н.Ю. Прудникова, И.М. Ордиянц, Н.В. Жилина [и соавт.] // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2009. - №5. - С. 108–112.

12. Генетические и иммунологические аспекты доброкачественных дисплазий молочных желёз / И.П. Косолапова, М.Н. Масленникова, К.М. Гудков, И.М. Ордянец // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2009. - №5. - С. 146–154.
13. Генетические и иммунологические аспекты доброкачественных дисплазий молочных желез / И.П. Косолапова, М.Н. Масленникова, К.М. Гудков, И.М. Ордянец [и соавт.] // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2009. - №5. - С. 2–6.
14. Гиперплазия эндометрия у женщин пре- и постменопаузального возраста / С.Э. Аракелов, Н.Ю. Прудникова, И.М. Ордянец, Н.В. Жилина [и соавт.] // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2009. - №5. - С. 108–114.
15. Ордянец, И.М. Качество жизни женщин с пролапсом гениталий, недержанием мочи и климактерическим синдромом в постменопаузе / И.М. Ордянец, А.Л. Кузина, С.Э. Аракелов // **Огаревские чтения: Матер. науч. конфер. мед. института Мордовского государственного университета.** - Саранск. - 2010. - С. 28–33.
16. Прогнозирование рецидивов гиперпластических заболеваний у женщин постменопаузального возраста / С.Э. Аракелов, А.М. Гаспарян, И.М. Ордянец, И.Ю. Гончаров // **Мать и дитя в Кузбассе.** - 2011. - №1. - С. 149–154.
17. Качество жизни женщин постменопаузального возраста / С.Э. Аракелов, С.С. Абдуллаева, И.М. Ордянец, И.Ю. Гончаров // **Мать и дитя в Кузбассе.** - 2011. - №1. - С. 154–158.
18. Современные представления о доброкачественных дисплазиях молочных желез и их связи с гинекологическими заболеваниями / Е.А. Павлова, С.Э. Аракелов, И.М. Ордянец, Н.Д. Плаксина [и соавт.] // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2012. - №5. - С. 487–493.
19. Генетические и иммунологические детерминанты доброкачественных дисплазий молочных желез / С.Э. Аракелов, И.П. Катц, Е.А. Павлова, И.М. Ордянец // **Мать и дитя в Кузбассе.** - 2012. - №1. - С. 87–90.
20. Эффективность комплексного лечения больных с доброкачественными дисплазиями молочных желез и миомой матки / С.Э. Аракелов, М.Н. Масленникова, Е.А. Павлова, И.М. Ордянец // **Мать и дитя в Кузбассе.** - 2012. - №1. - С. 90–94.
21. Роль биомолекулярных маркеров в диагностике гиперплазии эндометрия / Б.М. Шапиевский, Е.А. Павлова, С.Э. Аракелов, И.М. Ордянец // **Вестн. Росс. университета дружбы народов. Серия Медицина.** - 2013. - №55. - С. 88–92.
22. Аракелов, С.Э. Особенности состояния здоровья и качества жизни женщин, получающих заместительную гормональную терапию в постменопаузе / С.Э. Аракелов, Е.В. Дмитриева, И.М. Ордянец // **Эффективная фармакотерапия.** - 2014. - №11-1. - С. 16–20.

23. Прогностическая значимость генетических факторов в развитии миомы матки и ее сочетания с аденомиозом / И.М. Ордянц, С.Э. Аракелов, В.В. Карданова, Е.В. Дмитриева [и соавт.] // **Мать и дитя в Кузбассе.** - 2014. - №3(58). - С. 32–35.

24. Генетический риск развития гиперпластического процесса в эндометрии и в молочных железах, ассоциированный полиморфизмом генов-кандидатов / И.М. Ордянц, С.Э. Аракелов, Е.А. Павлова, Е.В. Дмитриева [и соавт.] // **Мать и дитя в Кузбассе.** - 2014. - №4(59). - 2014. - С. 62–65.

25. Уровень экспрессии эстрогеновых, прогестероновых и андрогеновых рецепторов и соотношение их изоформ в эндометрии при гиперпластических процессах в эндометрии и в молочных железах / И.М. Ордянц, Ф.Г. Забозлаев, С.Э. Аракелов, Е.А. Павлова [и соавт.] // **Естественные и медицинские науки: актуальные проблемы и перспективы развития: Матер. II Международн. научно-практич. конфер.** - №2. - 2013. = С. 121–124.

ГИПЕРПЛАЗИЯ ЭНДОМЕТРИЯ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭНДОКРИННЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ПАТОГЕНЕЗА И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ

Аракелов Сергей Эрнестович
(Россия)

Диссертационное исследование посвящено проблеме ранней диагностики и прогнозирования развития и характера течения гиперпластических процессов эндометрия у пациенток репродуктивного возраста, в период менопаузального перехода и в постменопаузе. Ведущим звеном в патогенезе гиперплазии эндометрия у женщин репродуктивного возраста является наличие мутаций генов в системе детоксикации и межклеточных контактов, кодирующих ферменты с пониженной активностью, снижение содержания эмбриотропных аутоантител (гипореактивность) и увеличение активности лизосомальных ферментов по GLU, усиливающих интенсивность пролиферативных процессов. При рецидивирующей гиперплазии эндометрия в период менопаузального перехода имеет место снижение лизосомальной активности ферментов на фоне гиперреактивности организма. Комплексное иммуногистохимическое исследование при гиперплазии эндометрия позволяет выявить низкий уровень факторов апоптоза и рост факторов пролиферации, при атипической гиперплазии эндометрия - на фоне снижения числа рецепторов к эстрогенам и прогестерону. Низкая экспрессия рецепторов к стероидным гормонам, высокая экспрессия проонкогенных белков и низкая - антионкогенных белков при атипической гиперплазии эндометрия подтверждают высокий риск озлокачествления и нецелесообразность консервативной терапии у этой категории больных. На основании результатов исследования разработан эффективный комплекс диагностических мероприятий, внедрение которого позволяет в 2,3 раза снизить частоту рецидивов гиперпластических процессов эндометрия и на 36,3% уменьшить суммарные затраты на ведение пациенток за счет достоверной верификации диагноза и персонализированного выбора метода лечения с учетом риска рецидивов и онкотрансформации эндометрия.

**ENDOMETRIAL HYPERPLASIA IN AGE ASPECT. GENETIC, IMMUNOLOGICAL
AND ENDOCRINE DETERMINANTS IN THE PATHOGENESIS, PROGNOSIS
AND TREATMENT**

Arakelov Sergey Ernestovich
(Russia)

Research is devoted to the problem of early diagnosis and prediction of the development endometrial hyperplasia in women of reproductive, periods of the menopausal transition and post-menopause age. Driving link in the pathogenesis of endometrial hyperplasia in women of reproductive age is the presence of mutations in genes detoxification system and intercellular contacts encoding enzymes with reduced activity, reduced content embryotropic autoantibodies (hyporeactivity) and increase in the activity of lysosomal enzymes by GLU, amplifying the intensity of the proliferative processes. Recurrent endometrial hyperplasia, in women's during the menopausal transition, is the presence lysosomal activity of enzymes decreases against the background of the hyperreactivity. A complex immunohistochemical methods in endometrial hyperplasia reveals a low level of the growth factors, apoptosis and proliferation factors, with the atypical endometrial hyperplasia - of the reducing the number of receptors for estrogen and progesterone. The low expression of the receptors for steroid hormones, high expressions of the proonkogen proteins and low expressions - anti-oncogene proteins in atypical endometrial hyperplasia the confirmed by a high risk of the endometrial malignancy and unreasonableness of the conservative therapy in these patients. The based on the results of the study have developed an effective range of diagnostic facilities, the introduction of which allows 2.3 times reduce the recurrence rate of the endometrial hyperplasia and 36.3% reduction in the total cost of the treatments in patients at the expense of the accurate verification of diagnosis and personalized approach of the treatment, taking into account the risk of recurrence and malignancy of the endometrium.