

На правах рукописи



Алиева Фидан Тарлан кызы

**Прогностическое значение современных методов исследования при патологии
эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Брюнин Дмитрий Викторович

Официальные оппоненты:

Доброхотова Юлия Эдуардовна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лечебный факультет, кафедра акушерства и гинекологии, заведующий кафедрой

Оразов Мекан Рахимбердыевич – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, профессор кафедры

Ведущая организация:

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

Защита диссертации состоится «12» февраля 2024г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.28 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «_____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.001.28
доктор медицинских наук, профессор



Семиков Василий Иванович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Пременопаузальный период – период снижения функциональной активности яичников, предшествует наступлению менопаузы, длительность которого составляет несколько лет и охватывает период от 40 до 50 лет и является составной частью перименопаузального периода, характеризующийся появлением вазомоторных расстройств, дисфункциональных маточных кровотечений [Wheeler K.C. et al., 2017; Whitaker L. et al., 2016].

Гиперпластические процессы эндометрия (ГПЭ) являются гинекологической патологией, которые с увеличением возраста женщины встречаются с большей частотой. Установлено, что частота малигнизации диффузной и очаговой гиперплазии составляет 2-5% и достигает 60% в постменопаузальном периоде [Капитанова О.В. и соавт., 2020; Сабанцев М.А. и соавт., 2017; Giannella L. et al., 2019; Аксель Е.М. 2015; Доброхотова Ю.Э. и соавт., 2018; Ragupathy K., et al., 2013].

Одним из наиболее важных факторов, опосредующих динамику роста и изменений клеток эндометрия и регулирующих клеточный апоптоз, являются трансформирующий фактор роста бета-1 (ТФР- $\beta 1$), фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α), гликоделин А (ГДА) [Chatzaki E. et al., 2003; Cheong M.L. et al., 2019; Eritja N. et al., 2017]. Следует отметить, что информативность этих биомаркеров в диагностике и прогнозировании патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах не изучена.

Метод исследования поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния (ПУРР) применяют в диагностике различных онкологических заболеваний [Derpciuch J. et al., 2021; Khanmohammadi M. et al., 2011; Kong K. et al., 2015; Kourkoumelis N. et al., 2015; Smith J. et al., 2003; Theophilou G. et al., 2016]. Применение данного метода, основанного на использовании коллоидных серебрянных наночастиц, позволяет достаточно быстро провести химический анализ молекулярных структур тканей [Barnas E. et al., 2020; Driskell J.D. et al., 2009; Gniadecka M. et al., 2004; Lee S.C. et al., 2012].

Следует отметить, что информативность и прогностическая значимость Рамановской спектроскопии при патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах практически не изучена, что определило актуальность настоящей проблемы.

Степень разработанности темы исследования

Одним из важных методов диагностики гиперплазии эндометрия у женщин в перименопаузальном периоде с патологическими маточными кровотечениями является трансвагинальная сонография [Runner G.J. et al., 2014; Sakshi D.S. 2019; Shukla M. et al., 2017; Tehranian A. et al., 2015; Wheeler K.C. et al., 2017].

Является золотым стандартом проведение гистероскопического исследования с отдельным диагностическим выскабливанием стенок полости матки и с последующим гистологическим исследованием соскоба эндометрия [Кузнецова И.В. и соавт., 2016; Леваков С.А. и соавт, 2017; Bazot M. et al., 2018; Chhatrasal S. et al., 2017; Kim M.K. et al., 2015; Kotdawala P. et al., 2013; Pennant M.E. et al., 2017].

Применение гистероскопии у больных с клиническими проявлениями патологии эндометрия является высокочувствительным диагностическим методом, позволяющим проводить прицельную биопсию эндометрия и оценить эффективность терапии внутриматочных патологий [Бабурин Д.В. и соавт., 2016; Доброхотова Ю.Э. и соавт., 2018; Капитанова О.В. и соавт., 2020; Сабанцев М.А. и соавт., 2017; Серов В.Н. и соавт, 2016; Antunes A.Je. et al., 2007; Baber R.J. et al., 2016; Giannella L. et al., 2019].

Цель исследования

Определение значения современных методов исследования при прогнозировании патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах.

Задачи исследования

1. Изучить диагностическое и прогностическое значения уровней трансформирующего фактора роста бета 1 и гликоделина А в плазме крови при патологии эндометрия у женщин в пре- и постменопаузальном периодах.
2. Определить диагностическое и прогностическое значения трансформирующего фактора роста бета 1, фактора некроза опухоли альфа в тканях при патологии эндометрия у женщин в пре- и постменопаузальном периодах.
3. Изучить возможность использования спектрального анализа плазмы крови с целью прогнозирования патологических состояний эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах.
4. Исследовать взаимосвязь между спектральными характеристиками плазмы крови, уровнем биомаркеров и особенностями морфологических изменений при патологии эндометрия у пациенток в пре- и постменопаузальном периодах.
5. На основании полученных данных разработать алгоритм ведения женщин пре- и постменопаузального возраста для выявления патологии эндометрия.

Научная новизна

Впервые были исследованы спектральные характеристики метода ПУРР плазмы крови при различных видах патологии эндометрия у пациенток в пре- и постменопаузальном периодах, и их соответствие нозологическим формам, что подтверждено патоморфологическим исследованием.

Установлена прогностическая и диагностическая значимость трансформирующего фактора роста бета 1 (ТФР- β_1) и гликоделина А (ГдА) в плазме крови в пременопаузальном

периоде и экспрессии гена фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) в тканях эндометрия в постменопаузальном периоде.

Определено, что снижение уровня ТФР- β_1 и повышение уровня ГДА в плазме крови являются важным прогностическим критерием развития патологии эндометрия в пременопаузальном периоде. Наличие характерных спектров ПУРР в плазме крови и увеличение экспрессии гена ФНО- α в тканях эндометрия является диагностическим критерием патологии эндометрия в постменопаузальном периоде.

В результате проведенного исследования разработан алгоритм ведения пациенток в пре- и постменопаузальном периодах с целью прогнозирования и ранней диагностики патологических процессов эндометрия.

Теоритическая и практическая значимость работы

Метод ПУРР в плазме крови у пациенток в пре- и постменопаузальном периодах с высокой вероятностью, и это подтверждено патоморфологическим исследованием, диагностирует патологию эндометрия, что позволяет рекомендовать его как скрининговый экспресс-метод в диагностике и прогнозировании развития различных патологических процессов эндометрия данных возрастных групп пациенток.

Полученные данные позволили определить прогностическую и диагностическую значимость уровней ТФР- β_1 , ГДА в плазме крови и экспрессии гена ФНО- α в тканях эндометрия при патологических процессах эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах.

В процессе настоящего исследования установлено, что регистрация усредненных спектров ПУРР в совокупности с определением ТФР- β_1 и уровня ГДА в плазме крови является комплексом диагностических мероприятий при прогнозировании развития патологии эндометрия у пациенток пременопаузального периода.

Наличие усредненных спектров ПУРР в плазмы крови и увеличение экспрессии гена ФНО- α в тканях эндометрия является методом диагностики патологии эндометрия в постменопаузальном периоде.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа была выполнена в соответствии с принципами и правилами доказательной медицины.

В исследование вошли 171 пациентка, находящиеся в пре- и постменопаузальном периодах.

Пациентам, включенным в данное исследование, были проведены клинические, функциональные, гормональные, молекулярно-биологические, микробиологические, эндоскопические, гистологические исследования.

Впервые был применен экспресс метод диагностики патологии эндометрия методом ПУРР (Surface-Enhanced Raman Scattering, (SERS)).

Личный вклад автора

Автором самостоятельно разработан дизайн исследования. Набор клинического материала автор проводил в клинике акушерства и гинекологии имени В.Ф. Снегирева Сеченовского Центра Материнства и Детства, являющейся клинической базой кафедры акушерства и гинекологии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Автором в полном объеме проведен отбор, ведение пациенток в пред-, послеоперационном периоде, выполнялись эндоскопические операции, забор биоматериалов (периферическая кровь, ткани эндометрия), транспортировка их в лаборатории для проведения последующих исследований, включая молекулярно-биологический и метод поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния. На всех этапах исследования соблюдался контроль качества. Автором самостоятельно проведен поиск, анализ отечественной и зарубежной научной литературы по теме диссертации, статистическая обработка и интерпретация полученных результатов исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациенток в пременопаузе патология эндометрия, в отличие от постменопаузального периода, сопровождается достоверным системным снижением трансформирующего фактора роста бета 1 и повышением гликоделина А в плазме крови. В постменопаузальном периоде, в свою очередь, отмечается достоверное увеличение экспрессии гена фактора некроза опухоли альфа в тканях эндометрия.
2. Поверхностно-усиленное Рамановское рассеяние в плазме крови в пре- и постменопаузальном периодах позволяет с высокой точностью диагностировать патологию эндометрия (полип эндометрия - 83%, гиперплазию эндометрия - 64%), при этом специфичность достигает 91%, что позволяет рассматривать его как экспресс-метод диагностики патологии эндометрия.
3. Комплексное обследование, включающее проведение Рамановской спектроскопии и определение уровней трансформирующего фактора роста бета 1, гликоделина А в плазме крови, позволяет достоверно прогнозировать развитие патологии эндометрия у пациенток в пременопаузе.
4. На основании спектральных характеристик плазмы крови по данным поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния и показателей биомаркеров разработан алгоритм ведения пациенток, находящихся в пре- и постменопаузальном периодах.

Соответствие диссертации паспорту научных специальностей

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология, отрасли наук: медицинские науки, а также области исследования согласно пунктам 4 и 6 паспорта специальности.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов исследования обеспечена, прежде всего, достаточным клиническим материалом, применением современных методов исследования, а также подтверждена статистическим анализом.

Клинические, лабораторные, функциональные, гормональные, микробиологические, эндоскопические исследования были проведены в клинике акушерства и гинекологии имени В.Ф. Снегирева Сеченовского Центра Материнства и Детства, являющейся клинической базой кафедры акушерства и гинекологии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Молекулярно-биологическое исследование проводилось в лаборатории патологии репродукции Государственного научного центра Российской Федерации ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского». Морфологическое исследование проводилось в Институте клинической морфологии и цифровой патологии, в централизованном патологоанатомическом отделении ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). Спектроскопическое исследование проводилось в Самарском национальном исследовательском университете имени академика С.П. Королева (Самарский университет), Самара, Российская Федерация.

Полученные результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на Научно-практической конференции посвященной 100-летию Тамерлана Алиева «Актуальные проблемы медицины» (Баку, 6-8 октября 2021).

Апробация работы состоялась на научно-методической конференции кафедры акушерства и гинекологии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 10 от 24 мая 2023 г.).

Внедрение результатов в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в лечебный процесс гинекологического отделения с операционными клиники акушерства и гинекологии имени В.Ф. Снегирева Сеченовского Центра Материнства и Детства ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Акт внедрения №259 от 16.05.2023г.).

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры акушерства и

гинекологии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) для студентов при изучении дисциплины «Акушерство и гинекология», а также при подготовке кадров высшей квалификации (ординатура и аспирантура) по направлению «Акушерство и гинекология» (Акт внедрения №264 от 16.05.2023г.).

Публикации

По результатам исследования автором опубликовано 11 работ, в том числе 2 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 1 статья в издании, индексируемый в международной базе Scopus; 3 иные публикации по результатам исследования; 5 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 133 страницах компьютерного текста, состоит из, введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, содержит 36 таблиц, 11 рисунков, 3 схем. Список литературы состоит из 202 источников, из них 57 на русском, 145 на английском языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исходя из цели исследования и решения поставленных задач, было проведено научное исследование за период 2020-2023гг в клинике акушерства и гинекологии имени В. Ф. Снегирева Сеченовского Центра Материнства и Детства, в гинекологическом отделении с операционными, являющимся клинической базой кафедры акушерства и гинекологии №1 Института Клинической Медицины имени Н.В. Склифосовского Сеченовского Университета (заведующий кафедрой, директор клиники – д.м.н., профессор Ищенко А.И.).

Диссертационное исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол №04-21 от 18.02.2021.

Было проведено обследование 171 пациентки, находящихся в пре- и постменопаузальном периодах. 1-ую основную группу (n=73) составили пациентки с патологией эндометрия в пременопаузе. Во 2-ую основную группу были включены 58 больных с патологией эндометрия в постменопаузальном периоде. В сравнительные группы были включены пациентки без

патологии эндометрия в пременопаузе (1-ая сравнительная группа, n=20) и постменопаузальном периоде (2-ая сравнительная группа, n=20).

Всем больным, включенным в данное исследование, были проведены общеклинические, лабораторные, функциональные, эндоскопические и морфологические методы исследования, согласно стандартам оказания медицинской помощи. Больным с различной патологией эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах было проведено трансвагинальное ультразвуковое исследование на аппарате “Voluson E8 General Electric” (США) с трансвагинальным конвексным датчиком частотой 5-9 МГц.

Больным с патологией эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах определялись уровни ГДА, ТФР- β_1 в плазме крови методом ИФА (иммуноферментный анализ). Были определены также уровни ТФР- β_1 и ФНО- α в тканях эндометрия методом ПЦР (полимеразная цепная реакция).

Соскобы эндометрия подвергались гистологическому исследованию.

С целью экспресс-диагностики патологий эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах впервые был применен метод Рамановской спектроскопии – SERS – метод поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния в плазме крови. Метод основан на регистрации и анализе результатов ПУРР (SERS) с использованием коллоидных серебряных наночастиц и микроскопической системы. Для ПУРР - анализа плазмы крови были сформированы следующие группы: полип (31 образец), гиперплазия (10 образцов) и контроль (7 образцов). Полученные данные, будучи по своей сути многомерными и многопараметрными, анализировали с использованием метода дискриминантного анализа посредством проекции на латентные структуры (PLS-DA). Определение принадлежности Рамановских пиков к определенным классам веществ выполняли с помощью базы данных Рамановских спектров биологических тканей.

Все вычисления проводились на электронной таблице Excel. Для анализа полученных количественных цифровых данных применены методы вариационной статистики. Вычислены средние значения полученных выборок (M), их среднеквадратические отклонения (σ), стандартные ошибки (m), 95% доверительные интервалы (95% ДИ), минимальные (min) и максимальные (max) значения рядов. Полученные результаты подвергались статистической обработке. При этом применялась компьютерная программа “Statgraph”, предназначенная для статистической обработки данных параметрическим и непараметрическим способом.

Результаты молекулярно-биологического исследования были проанализированы с помощью программы SigmaStat 3.5 (SystatSoftware, Inc.). Характер распределения анализируемых параметров в выборках оценивали с помощью критерия Колмогорова - Смирнова. В случае нормально распределенных показателей использовали t-тест, для

распределений, отличных от нормального, использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Результаты представляли в виде медианы и квартилей, минимальных и максимальных значений. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты собственного исследования

Клинические проявления патологии эндометрия и частота их встречаемости в пре- и постменопаузальном периодах

В результате изучения клинических проявлений патологии эндометрия в пременопаузальном периоде было установлено, что у 31 (42,5%) больной (из 73) с патологией эндометрия отмечались полименорея, у 29 (39,7%) – ациклические кровянистые выделения, у 20 (27,4%) – меноррагия, у 14 (19,2%) – опсоменорея, у 12 (16,4%) – боли в пояснице и внизу живота, у 9 (12,3%) – пройоменорея. У 4 (5,5%) отсутствовали клинические проявления патологии эндометрия.

Следует отметить, что у больных без патологии эндометрия в пременопаузе данные клинические проявления отсутствовали.

Изучение клинических проявлений патологии эндометрия в постменопаузальном периоде у 47 (81,0%) больных (из 58) отмечались боли в пояснице и внизу живота, у 41 (70,7%) – кровянистые выделения из половых путей, у 2 (3,4%) – кровотечение. У 11 (19,0%) отсутствовали клинические проявления. У больных без патологии эндометрия в постменопаузальном периоде (2-ая сравнительная группа) у 6 (30%) больных отмечались боли в пояснице и внизу живота, у 1 (5%) были кровянистые выделения из половых путей, 13 (65%) пациенток жалоб не предъявляли.

Сравнение клинических проявлений патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах позволили установить, что в пременопаузальном периоде патология эндометрия проявляется, преимущественно, нарушением менструаций (полименореей и меноррагией) – 69,9% и нарушением менструального цикла (ациклическими кровянистыми выделениями, опсоменореей и пройоменореей) – 71,2%. В постменопаузальном периоде при патологии эндометрия отмечается высокая частота болей в пояснице и внизу живота (81%) и кровянистые выделения из половых путей (70,7%). Следует отметить, что патология эндометрия в постменопаузальном периоде может быть диагностирована на фоне отсутствия клинических проявлений.

Результаты ультразвукового исследования органов репродуктивной системы в пременопаузальном периоде

По данным трансвагинального УЗ исследования полип эндометрия характеризовался повышенной эхогенностью, неоднородной структурой эндометрия с гиперэхогенными включениями. Размеры полипа эндометрия варьировались от 4 мм до 19 мм.

В пременопаузе у 37 (50,7%) пациенток (из 73) с патологией эндометрия были обнаружены эхографические признаки полипа эндометрия, у 26 (35,6%) – гиперплазии эндометрия, у 4 (5,5%) – полипа цервикального канала, у 6 (8,2%) – сочетание полипа и гиперплазии эндометрия.

Следует отметить, что у 17 (45,9%) пациенток (из 37) полип эндометрия сочетался с миомой матки, у 4 (10,8%) – с аденомиозом, у 3 (8,11%) – и с миомой, и с аденомиозом. У 9 больных (34,6%) (из 26) гиперплазия эндометрия сочеталась с миомой матки, у 5 (19,2%) – с аденомиозом, у 6 (23,1%) – и с миомой, и с аденомиозом.

Результаты ультразвукового исследования органов репродуктивной системы в постменопаузальном периоде

В результате проведенного УЗ исследования было установлено, что у больных в постменопаузальном периоде патология эндометрия проявляется наличием полипа эндометрия у 24 (41,4%) (из 58) больных, гиперплазии эндометрия у 28 (48,3%), сочетанием полипа и гиперплазии эндометрия у 6 (10,3%). При этом размеры полипа варьировались от 5 мм до 35 мм.

Следует отметить, что у больных с патологией эндометрия отмечались сопутствующие гинекологические заболевания: наличие миомы матки у 24 (41,4%), аденомиоза у 8 (13,8%), внутриматочных синехий у 2 (3,4%), опухоли и опухолевидные образования яичников у 4 (6,9%) больных.

Результаты гормональных исследований в пре- и постменопаузальном периодах

В результате исследования гормонов у больных с патологией эндометрия в пременопаузальном периоде отмечаются высокие уровни Э₂ ($473 \pm 20,0$ пмоль/л), ДГЭА-С ($4,5 \pm 0,01$ мкмоль/л) и низкие показатели ЛГ ($12,1 \pm 1,1$ мМЕ/мл), ФСГ ($20,6 \pm 2,7$ мМЕ/мл) по сравнению с аналогичными показателями пациенток без патологии эндометрия в пременопаузе ($P < 0,05$).

При патологии эндометрия в постменопаузальном периоде отмечается существенное увеличение показателей ЛГ ($36,5 \pm 1,9$ мМЕ/мл), ФСГ ($67,3 \pm 1,29$ мМЕ/мл), Э₂ ($143,9 \pm 11,8$ пмоль/л) и Т ($12,3 \pm 0,1$ нмоль/л) по сравнению с аналогичными показателями пациентов без патологии эндометрия ($P < 0,05$).

Результаты определения показателей трансформирующего фактора роста бета-1 и гликоделина А в плазме крови при патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах

При проведении настоящего исследования были изучены показатели: ТФР-β₁ и ГдА в плазме крови при патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Показатели ТФР-β₁ и ГдА в плазме крови обследованных пациенток в пре- и постменопаузе, Ме [Q₁; Q₃]

Группа	ТФР-β ₁ , пг/мл	ГдА, нг/мл
Пременопауза		
С патологией эндометрия (1-ая основная группа)	59,28 [39,17;86,27] 1	0,67 [0,33;3,93] 5
Без патологии эндометрия (1-ая сравнительная группа)	98,59 [78,41;132,38] 2	0,3 [0,17;2,14] 6
Постменопауза		
С патологией эндометрия (2-ая основная группа)	73,84 [62,92;103,24] 3	0,14 [0,06;0,36] 7
Без патологии эндометрия (2-ая сравнительная группа)	64,48 [60,84;84,03] 4	0,18 [0,18;0,25] 8
Значимость различий	P ₁₋₂ =0,028 P ₁₋₃ =0,139 P ₂₋₄ =0,046 P ₃₋₄ =0,379	P ₅₋₆ =0,005 P ₅₋₇ =0,032 P ₆₋₈ =0,046 P ₇₋₈ =0,32

Как видно из таблицы 1, у пациенток в пременопаузе с патологией эндометрия уровень ТФР-β₁ в плазме крови был статистически значимо ниже, чем у пациенток без патологии эндометрия (1-ая сравнительная группа).

Содержание ГдА в плазме крови пациенток 1-ой основной группы было значительно выше, чем у пациенток 1-ой сравнительной группы в пременопаузе. В постменопаузе достоверные различия по уровням ТФР-β₁ и ГдА между группами отсутствовали.

Результаты определения уровней трансформирующего фактора роста бета-1 и фактора некроза опухоли альфа в тканях эндометрия при патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах

При проведении настоящего исследования также были изучены показатели: ТФР- β_1 , ФНО- α в тканях эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах.

Показатели экспрессии генов ФНО- α и ТФР- β_1 в тканях эндометрия пациенток в пре- и постменопаузе представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, экспрессия генов ФНО- α в тканях эндометрия была более высокой в постменопаузе у пациенток с патологией эндометрия (2-ая основная группа) по сравнению с таковой во 2-ой сравнительной группе, учитывая, что меньшему показателю цикла амплификации (Ct) соответствует больший уровень экспрессии генов. Уровень экспрессии ТФР- β_1 статистически значимо не различался во всех группах.

Таблица 2 - Показатели экспрессии генов ФНО- α и ТФР- β_1 в тканях эндометрия обследованных пациенток в пре- и постменопаузе, Me [Q₁; Q₃]

Группа	Пороговое значение цикла (Ct) амплификации ФНО- α	Пороговое значение цикла (Ct) амплификации ТФР- β_1
Пременопауза		
С патологией эндометрия (1-ая основная группа)	21,7 [21,55;25,05] 1	38,6 [38,55;39,05] 5
Без патологии эндометрия (1-ая сравнительная группа)	21,9 [21,6;22,2] 2	38,9 [38,8;39] 6
Постменопауза		
С патологией эндометрия (2-ая основная группа)	22,55 [21,1;26,08] 3	38,8 [38,53;38,9] 7
Без патологии эндометрия (2-ая сравнительная группа)	24,35 [23,48;26,3] 4	39,2 [38,5;39,63] 8
Значимость различий	P ₁₋₂ =0,379 P ₁₋₃ =0,988 P ₂₋₄ =0,007 p ₃₋₄ <0,001	P ₅₋₆ =0,188 P ₅₋₇ =0,596 P ₆₋₈ =0,238 P ₇₋₈ =0,242

Примечание. Меньшему показателю цикла амплификации соответствует больший уровень экспрессии гена.

В результате проведенного исследования установлено, что различным видам патологии эндометрия в постменопаузе сопутствовали локальные изменения, представленные увеличением экспрессии ФНО- α в эндометрии.

С учетом полученных данных можно предположить, что определение уровней ТФР- β_1 и ГдА в плазме крови у пациенток в пременопаузальном периоде и экспрессии гена ФНО- α в ткани эндометрия у пациенток в постменопаузальном периоде может быть полезным дополнением к традиционным методам диагностики патологии эндометрия у больных в пре- и постменопаузе, а также может позволить начать поиск новых путей эффективного терапевтического воздействия на эту патологию.

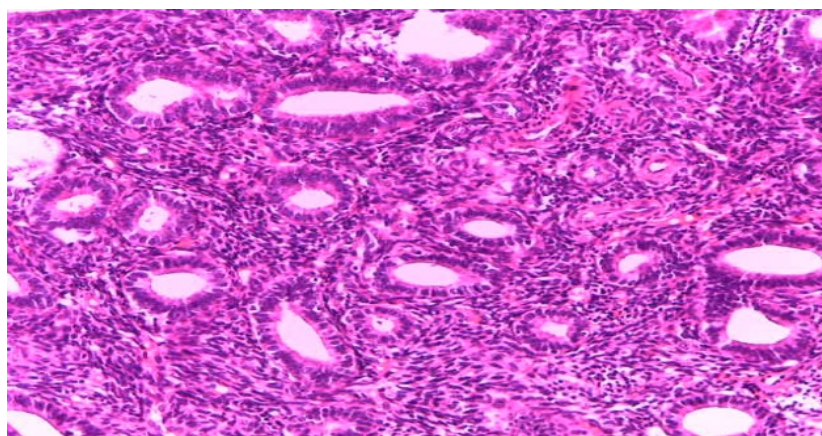
Результаты гистологического исследования соскобов эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах

В результате гистологического исследования соскобов эндометрия у больных с патологией эндометрия в пременопаузе (n=73) были диагностированы:

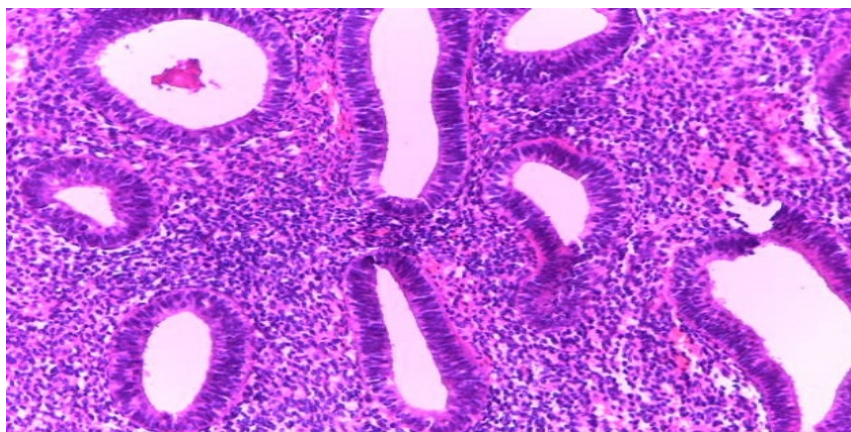
- 1) полип эндометрия у 40 (54,8%) больных, из них:
 - железисто-фиброзный полип у 39 (53,4%) (Рисунок 1);
 - железисто фиброзный полип с очаговым аденоматозом у 1 (1,4%).
- 2) гиперплазия эндометрия у 22 (30,1%) больных, из них:
 - гиперплазия эндометрия без атипии у 21 (28,7%) (Рисунок 2);;
 - атипическая гиперплазия у 1 (1,4%).

Нужно отметить, что у 7 пациенток гиперплазия эндометрия без атипии сочеталась с субмукозной лейомиомой.

- 3) хронический эндометрит у 9 (12,4%) больных;
- 4) аденокарцинома эндометрия у 2 (2,7%) больных.



а



б

Рисунок 1 - а - Железисто-фиброзный полип эндометрия; б- железистая гиперплазия без атипии.
Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Таким образом, в результате проведенного нами исследования установлено, что наиболее частыми гистологическими находками при патологии эндометрия у женщин в перименопаузальном периоде являлись полипы эндометрия (54,8%), из них 97,5% имели строение железисто-фиброзных полипов эндометрия, а также гиперплазия эндометрия (30,1%), из которой 95,5% составила гиперплазия эндометрия без атипии.

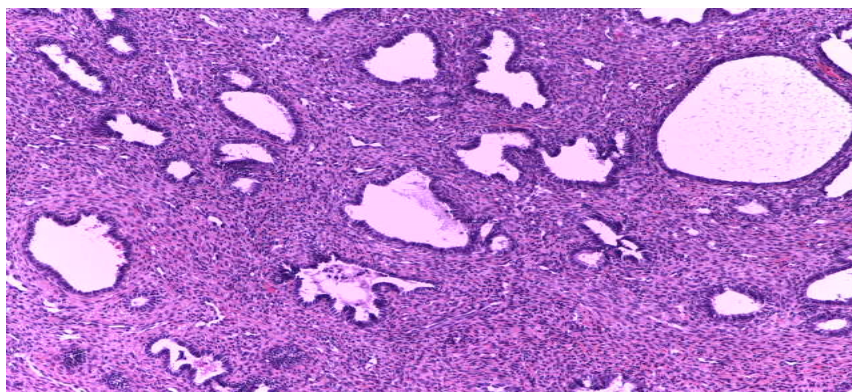
В перименопаузальном периоде предраковые процессы в эндометрии выявлялись у 2,7% женщин (полип эндометрия с очаговой атипической гиперплазией и атипическая гиперплазия эндометрия) в таком же проценте случаев (2,7%) диагностировался рак эндометрия (аденокарцинома).

При гистологическом исследовании соскобов эндометрия пациенток с различной патологией эндометрия в постменопаузальном периоде позволило установить наличие полипа эндометрия у 74,1% (n=43) из них у 72,4% отмечалось наличие железисто-фиброзного полипа (Рисунок 3).

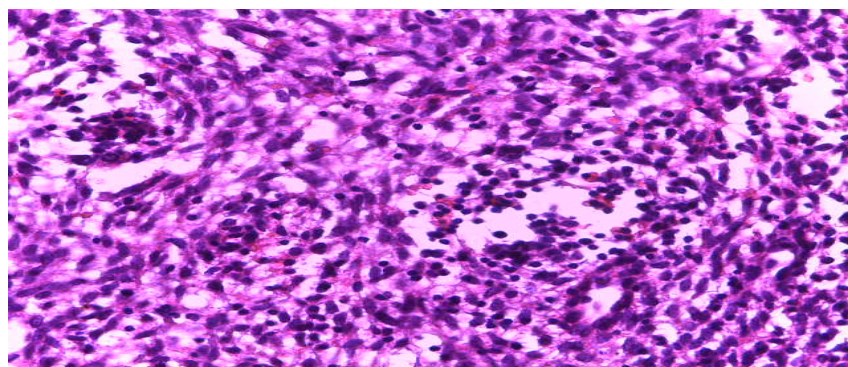
У 10,3% (n=6) больных была диагностирована гиперплазия эндометрия без атипии. Из них у 2 отмечалось сочетание с субмукозной лейомиомой.

По данным гистологического исследования у 5,2% (n=3) определялся хронический эндометрит (Рисунок 4). Частота атрофического эндометрия составила 3,4% (n=2).

У больных в постменопаузальном периоде предраковые процессы эндометрия выявились у 5,2% (n=3) (железисто-фиброзный полип сочетался с атипической гиперплазией эндометрия (n=2), железисто-фиброзного полипа с аденоматозом и с атипической гиперплазией эндометрия (n=1)). частота аденокарциномы эндометрия составила 6,9% (n=4).



а



б

Рисунок 2 - а - Железисто-фиброзный полип эндометрия, $\times 100$; б - хронический эндометрит, $\times 400$. Окраска гематоксином и эозином

Таким образом, гистологическое исследование патологии эндометрия в постменопаузальном периоде по сравнению с патологией эндометрия в пременопаузе позволило установить существенное увеличение частоты полипа эндометрия на 19,3%, увеличение предраковых процессов эндометрия на 2,5% и увеличение частоты аденокарциномы эндометрия на 3,2%, что позволило отнести различные формы патологии эндометрия в постменопаузальном периоде к фактору высокого риска развития предрака и рака эндометрия.

Результаты экспресс-диагностики патологии эндометрия методом поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния у пациентов в пре- и постменопаузе

Впервые для экспресс диагностики патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах был применен метод Рамановской спектроскопии - ПУРР. На основании патоморфологической верификации патологии эндометрия (гиперплазия и полип эндометрия) строилась классификационная модель для проведения ПУРР в плазме крови и получения спектральных характеристик

В результате проведенного исследования были получены спектральные картины больных с полипом и гиперплазией эндометрия. Следует отметить, что различий в зависимости от возраста не имелись.

Результаты регистрируемых усредненных спектров ПУРР при полипе, гиперплазии эндометрия и в контрольных образцах, представлены на рисунках 3,4.

Установлены общие полосы с химической структурой вещества для групп с полипом и гиперплазией эндометрия: 858 см^{-1} (тирозин, коллаген); 917 см^{-1} и 974 см^{-1} (вибрация рибозы); 1080 см^{-1} фосфатные колебания (фосфодиэфирные группы в нуклеиновых кислотах). Полоса на 1242 см^{-1} принадлежит группе с полипами, она характерна колебанию амида III, для двух остальных групп полоса отсутствует. Полоса 1418 см^{-1} колебание CH_2 в липидах характерна для группы с полипами, для контрольной группы смещена в полосу 1416 см^{-1} , а для группы с гиперплазией отсутствует. Исследуемые группы можно также обнаружить не только по смещению полос, но и по интенсивности, наиболее показательными стали полосы на 465 см^{-1} , 536 см^{-1} , 816 см^{-1} , 996 см^{-1} , 1055 см^{-1} , 1132 см^{-1} и 1208 см^{-1} .

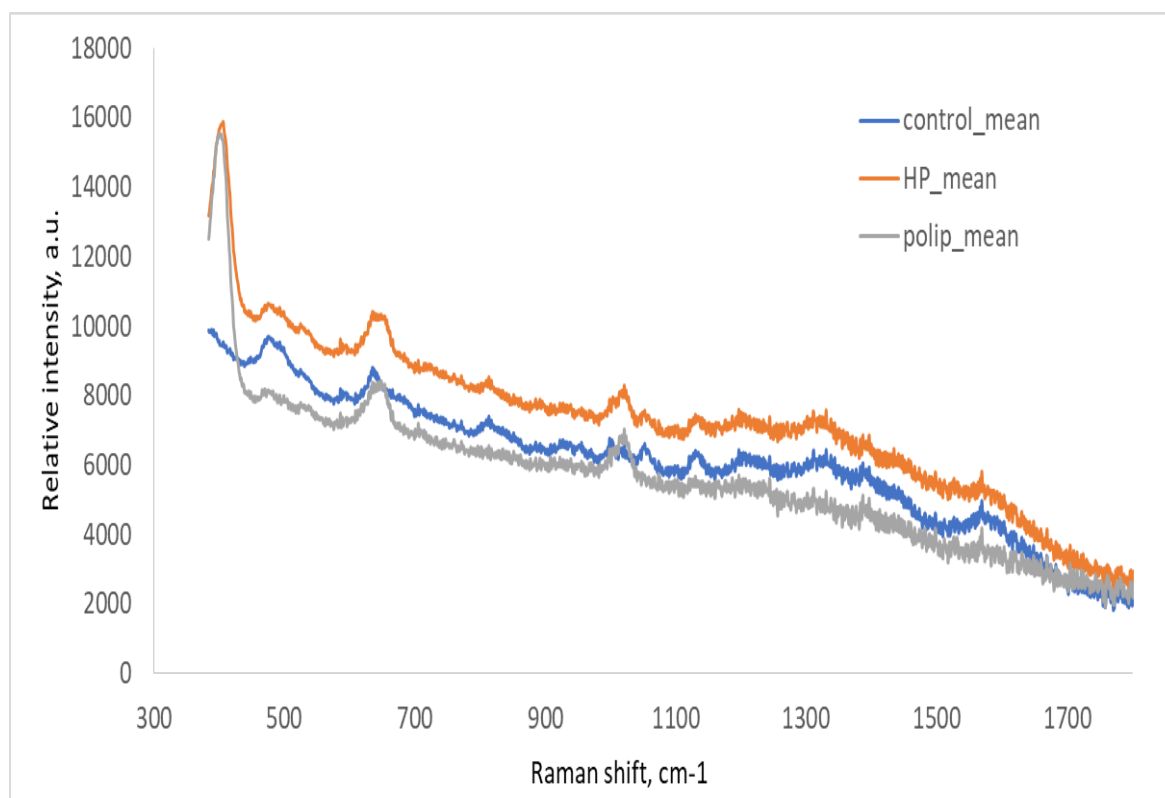


Рисунок 7 - Регистрируемые усредненные спектры поверхностно усиленного Рамановского рассеяния плазмы крови от образцов с полипом, гиперплазией сравнении с контрольной группой

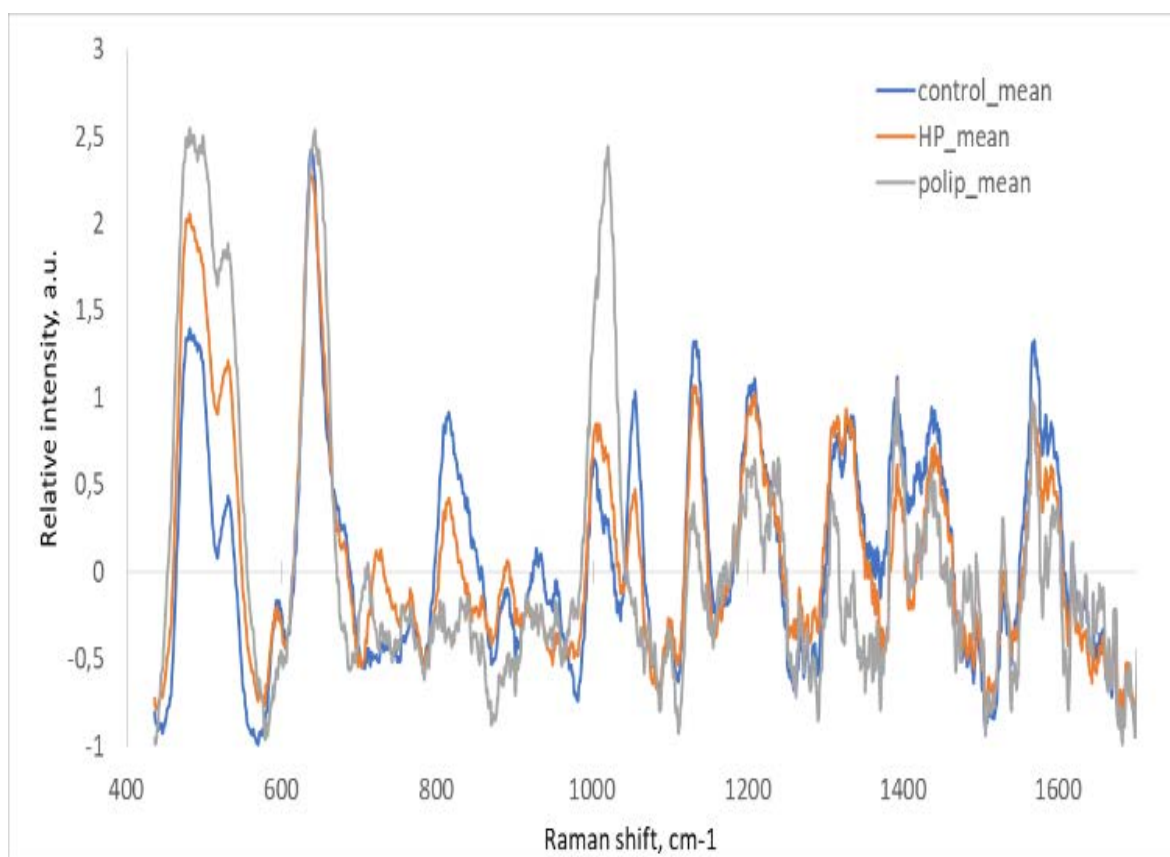


Рисунок 8 - Усредненные обработанные спектры поверхностно усиленного Рамановского рассеяния плазмы крови от образцов с полипом, гиперплазией в сравнении с контрольной группой

В результате проведенного исследования установлено, что изменение интенсивности на полосе 1018 см^{-1} характерно для полипов эндометрия, при этом по усредненным спектрам видно увеличение интенсивности рамановского рассеяния в этой полосе (Рисунок 5). Это может быть связано с угловым колебанием фенильного кольца из-за более высокого содержания фенилапанина или изгибных колебаний $\text{C}-\text{CH}$ бета-каротина в основном состоянии.

В результате построения аналитической модели с помощью метода PLS-DA, точность разделения Рамановских спектров плазмы крови пациентов с полипом относительно контрольной группы и гиперплазии для калибровочного и проверочного набора достигает 83% и 81%, соответственно. Близкие значения говорят о хорошей устойчивости математической модели. Также были рассчитаны значения точности выделения гиперплазии относительно полипа и контроля 64-67% и контрольной группы относительно гиперплазии и полипа – 64-71%. При этом чувствительность и специфичность метода для проверочного набора составляют 62% и 91%, соответственно (Рисунок 10).

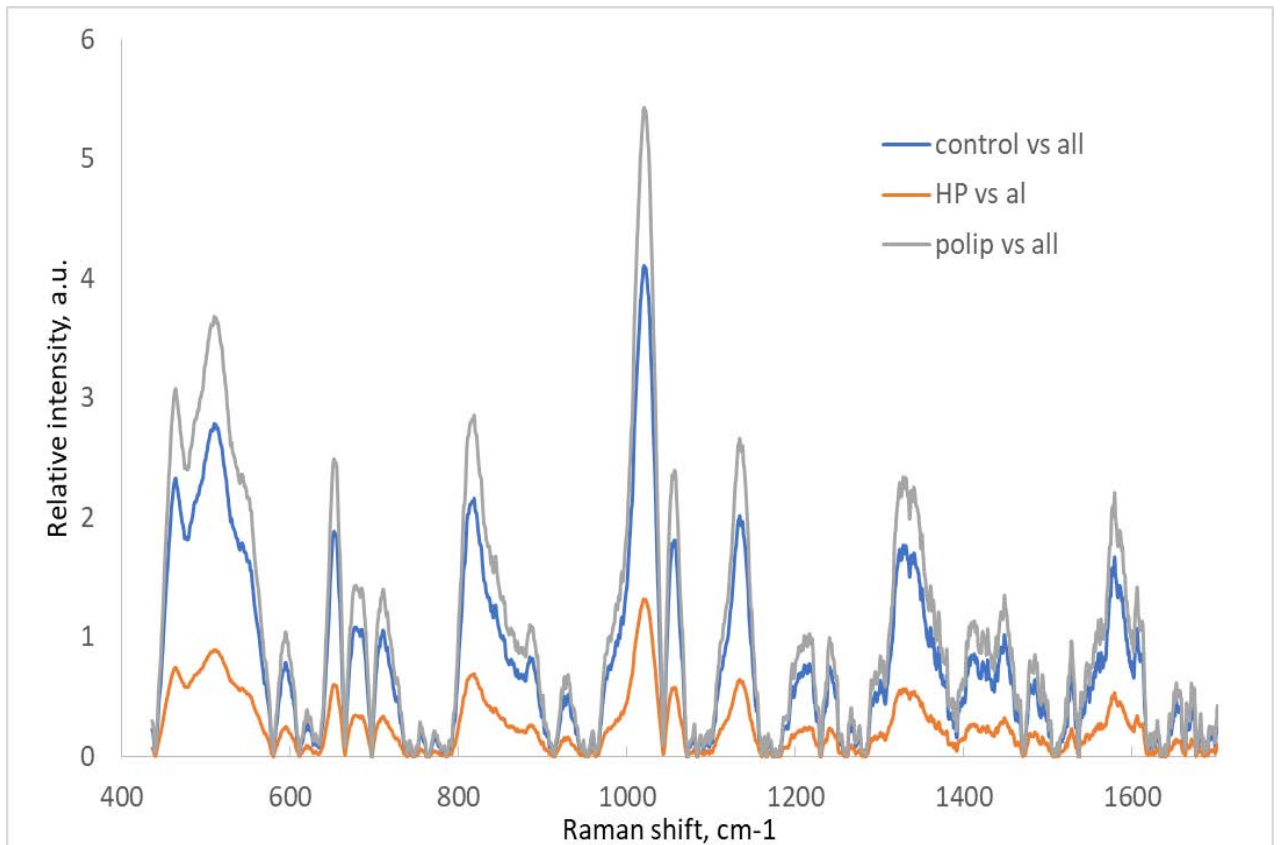


Рисунок 9 - Распределение важности переменных поверхностно-усиленных рамановских спектров плазмы в классификации образцов по патолого-ассоциированному признаку при реализации методов анализа экспериментальных данных на основе PLS-DA

PLS-DA model (class plsda) summary

Info: serum_sers(1-control,2-hyperplasia,3-Polip)

Number of selected components: 1

Cross-validation: random with 7 segments

Class #1 (a)

	X cumexpvar	Y cumexpvar	TP	FP	TN	FN	Spec.	Sens.	Accuracy
Cal	22.02	21.38	7	4	38	14	0.905	0.333	0.714
Cv	NA	NA	5	7	35	16	0.833	0.238	0.635

Class #2 (b)

	X cumexpvar	Y cumexpvar	TP	FP	TN	FN	Spec.	Sens.	Accuracy
Cal	22.02	21.38	0	0	42	21	1.000	0	0.667
Cv	NA	NA	0	2	40	21	0.952	0	0.635

Class #3 (c)

	X cumexpvar	Y cumexpvar	TP	FP	TN	FN	Spec.	Sens.	Accuracy
Cal	22.02	21.38	13	3	39	8	0.929	0.619	0.825
Cv	NA	NA	13	4	38	8	0.905	0.619	0.810

Рисунок 10 - Результаты исследования ПУРП плазмы крови у пациенток в пре-и постменопаузе (по данным PLS-DA)

Точность в первую очередь достигается за счет высоких значений специфичности. Стоит отметить, что это предварительные исследования, которые показывают возможность предиктивной диагностики различных патологий эндометрия и потенциал метода SERS для диагностики конкретных типов заболеваний.

Исходя из результатов исследования, учитывая информативность, простоту, неинвазивность метода SERS при определении патологии эндометрия, разработан алгоритм обследования пациенток в пре- и постменопаузальном периодах, представленный в схеме 1.

Данный алгоритм позволит провести скрининговое обследование пациенток на наличие патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах, что существенно снизит частоту неопластических процессов эндометрия.

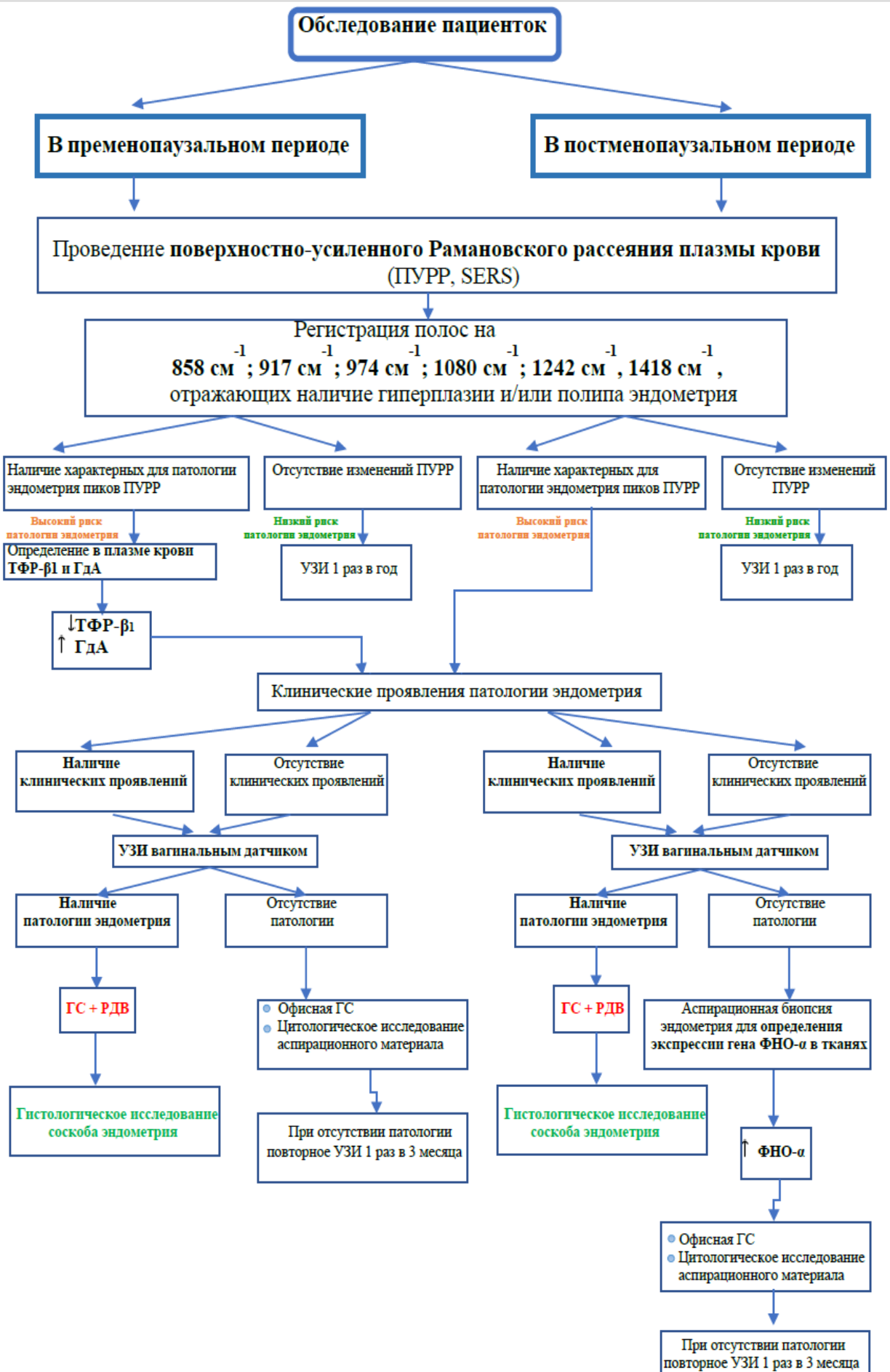


Схема 1 - алгоритм обследования пациенток в пре- и постменопаузальном периодах

ВЫВОДЫ

1. Комплексное исследование, включающее проведение Рамановской спектроскопии и определение биомаркеров, выявило соответствие полученных изменений с морфологической картиной патологии эндометрия у пациенток в пре- и постменопаузальном периодах, что имеет важное прогностическое значение.
2. Системное снижение трансформирующего фактора роста бета 1 (59,28 пг/мл) и повышение уровня гликоделина А (0,67 нг/мл) в плазме крови является значимым прогностическим фактором риска развития патологии эндометрия у пациенток в пременопаузальном периоде. В постменопаузальном периоде достоверных изменений этих показателей не выявлено.
3. При наличии патологического процесса эндометрия у пациенток в постменопаузальном периоде, в отличие от пременопаузального периода, отмечается достоверное увеличение экспрессии гена фактора некроза опухоли альфа в тканях эндометрия, что является дополнительным методом при прогнозировании патологии.
4. Экспресс диагностика патологии эндометрия методом поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния в плазме крови в пре- и постменопаузальном периодах позволяет с высокой точностью, что подтверждено патоморфологическим исследованием, диагностировать патологию эндометрия (полип эндометрия - 83%, гиперплазию эндометрия – 64%). При этом специфичность данного метода достигает 91%.
5. У пациенток пременопаузального периода регистрируемые усредненные спектры поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния плазмы крови в совокупности с системным снижением трансформирующего фактора роста бета 1 и повышением уровня гликоделина А в плазме крови с высокой долей вероятности можно прогнозировать развитие патологии эндометрия.
6. Разработанный алгоритм ведения пациенток пре- и постменопаузального возраста, в зависимости от изменений спектральных характеристик и уровней биомаркеров, позволяет прогнозировать и расширить комплекс диагностических мероприятий при патологии эндометрия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенткам в пременопаузальном периоде, с точки зрения оценки риска развития патологии эндометрия, целесообразно проведение скринингового обследования, включающее проведение поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния в совокупности с определением уровней трансформирующего фактора роста бета 1 и гликоделина А в плазме крови.
2. Наличие в пременопаузальном периоде характерных для патологии эндометрия пиков поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния, уменьшение трансформирующего фактора роста бета 1 и повышение уровня гликоделина А в плазме крови предполагает проведение

ультразвукового исследования с последующим проведением гистероскопии, отдельного диагностического выскабливания и гистологического исследования соскоба эндометрия.

3. При выявлении характерных для патологии эндометрия пиков поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния, уменьшение трансформирующего фактора роста бета 1, и повышение уровня гликоделина А в плазме крови на фоне отсутствия клинико-функциональных проявлений патологии эндометрия является целесообразным проведение офисной гистероскопии с последующим цитологическим исследованием аспирационного материала.

4. Пациенткам в постменопаузальном периоде для оценки риска развития патологии эндометрия целесообразно проведение скринингового экспресс-метода поверхностно-усиленного Рамановского рассеяния в плазме крови. При выявлении характерных спектральных изменений в плазме крови пациенткам следует провести аспирационную биопсию эндометрия с последующим определением экспрессии гена фактора некроза опухоли альфа в тканях эндометрия, офисную гистероскопию и цитологическое исследование аспирационного материала.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Диагностическая значимость трансформирующего фактора роста- $\beta 1$, фактора некроза опухоли- α и гликоделина А при патологии эндометрия в пре- и постменопаузальном периодах / **Ф.Т. Алиева**, Д.В. Брюнин, А.П. Алексанкин [и др.] // **Российский вестник акушера-гинеколога**. - 2022. - № 4. - С. 25-30. [Scopus].
2. **Алиева, Ф.Т.** Особенности патологии эндометрия в пременопаузальном периоде / Ф.Т. Алиева, Д. В. Брюнин // **Лечащий врач**. - 2022. - Т. 25. - № 12. - С. 41-43.
3. Клинико-морфологические особенности патологии эндометрия в пременопаузальном периоде / **Ф.Т. Алиева**, Д.В. Брюнин, Н.Б. Парамонова [и др.] // **Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева**. - 2022. - Т. 9. - № 4. - С. 213-219.
4. **Алиева, Ф.Т.** Особенности клинических проявлений и ультразвукового исследования органов репродуктивной системы при патологии эндометрия в постменопаузальном периоде / Ф.Т. Алиева, Д.В. Брюнин, Фарах Т. Алиева // **Медицинские новости**. - 2021. - Т. 326. - № 11. - С. 82-84.
5. **Алиева, Ф.Т.** Особенности изменения уровня гормонов при патологии эндометрия в постменопаузальном периоде / Ф.Т. Алиева, Д.В. Брюнин, Фарах Т. Алиева // **Вестник современной клинической медицины**. - 2021. - Т. 14. - № 5. - С. 18-21.
6. **Алиева, Ф.Т.** Информативность трансвагинальной сонографии при патологии эндометрия в пременопаузальном периоде / Ф.Т. Алиева, Д.В. Брюнин // **Актуальные вопросы современной гинекологии и перинатологии**. - 2021. - № 3. - С. 35-39.

7. **Алиева Ф.Т.**, Брюнин Д.В. «Причины маточных кровотечений в перименопаузальном периоде», стр. 40-41, Материалы XXXIV Международного конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» М., 2021 – 130 с.
8. **Алиева Ф.Т.**, Брюнин Д.В., Бахвалова А.А., Алиева Фарах Т. «Факторы риска развития патологии эндометрия в перименопаузальном периоде», стр. 96, Сборник тезисов научно-практической конференции посвященной 100-летию Тамерлана Алиева «Актуальные проблемы медицины» Баку. - 6-8 октября – 2021 – 130 с.
9. **Алиева Ф.Т.**, Брюнин Д.В., Бахвалова А.А., Алиева Фарах Т. «Диагностическая значимость гистероскопического исследования при патологиях эндометрия в перименопаузальном периоде» стр. 19-20, Материалы XVI Международный конгресса по репродуктивной медицине «Вопросы организации акушерско-гинекологической помощи» М., 2022 – 302 с.
10. **Алиева Ф.Т.**, Брюнин Д.В., Алиева Фарах Т. «Особенности эхографических показателей органов репродуктивной системы при патологии эндометрия у женщин в перименопаузальном периоде» стр. 126-127, Материалы XXIII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и Дитя» М., 2022 – 315 с.
11. **Алиева Ф.Т.**, Брюнин Д.В., Алексанкин А.П., Тихонова Н.Б., Артемьева К.А., Алексанкина В.В., Болтовская М.Н., Бахвалова А.А., Алиева Фарах Т. «Изменение уровней трансформирующего фактора роста- β 1, фактора некроза опухоли- α и гликоделина А при патологии эндометрия в пре- и постменопаузе» стр. 24-25, Сборник тезисов IV национального конгресса с международным участием «Лабораторные Технологии в Репродуктивной Медицине и Неонатологии: «Цифровая трансформация: современный тренд в лабораторной диагностике» М., 2022 – 120 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГдА - гликоделин А

ДГЭА-С - дегидроэпиандростерон-сульфат

ЛГ - лютеинизирующий гормон

ПУРР - поверхностно-усиленное Рамановское рассеяние

Т - тестостерон

ТФР - трансформирующий фактор роста

ФНО - фактор некроза опухоли

Э₂ - эстрадиол

Ст - пороговое значение циклов

PLS-DA - Partial Least-Squares Discriminant Analysis