

Федеральное государственное автономное образовательное  
учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов  
имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования  
Российской Федерации

На правах рукописи

Артеменко Юлия Сергеевна

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА  
АНОМАЛЬНЫХ МАТОЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ ПРИ ОЖИРЕНИИ  
В РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата  
медицинских наук

Научный руководитель:  
заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук, профессор  
Хамошина Марина Борисовна

Москва — 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АНОМАЛЬНЫХ МАТОЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЯХ В РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ И ОЖИРЕНИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	19
1.1 Аномальные маточные кровотечения: актуальность, причины, факторы риска .....	19
1.2 Менструация: местные механизмы, регулирующие нормальное менструальное кровотечение.....	24
1.3 Аномальные маточные кровотечения, обусловленные .....	28
дисфункцией эндометрия .....	28
1.4 Ожирение как хроническое воспаление и его роль в патогенезе АМК .....	35
1.5 Генетические аспекты АМК и ожирения.....	41
1.6 Роль маркеров ангиогенеза в развитии АМК на фоне дисфункции эндометрия .....	45
ГЛАВА 2. ДИЗАЙН И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	53
2.1 Дизайн исследования и характеристика его объектов .....	53
2.2 Методы исследования .....	58
2.2.1 Методы молекулярной генетики .....	60
2.2.2 Патоморфологическое и иммуногистохимическое исследования биоптатов эндометрия.....	63
2.3 Статистическая обработка массива полученных данных .....	67
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН.....	70
3.1 Ретроспективный этап.....	70
3.2 Проспективный этап .....	73
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО И МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЙ.....	95
4.1 Результаты лабораторного исследования .....	95
4.2 Результаты молекулярно-генетического тестирования .....	96
обследованных пациенток на носительство полиморфизмов генов <i>eNOS</i> , <i>VEGF-</i> <i>A</i> , <i>HIF1<math>\alpha</math></i> , <i>IL6</i> , <i>ESR1</i> , <i>PPAR-G</i> .....	96
ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЙ БИОПТАТОВ ЭНДОМЕТРИЯ .....	109
5.1 Результаты гистологического исследования биоптатов эндометрия у женщин с АМК.....	109

5.2 Морфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия у пациенток с АМК-Е и ожирением.....	111
5.3 Морфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия у пациенток с рецидивами АМК-Е и ожирением.....	123
ГЛАВА 6. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ АЛГОРИТМА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ВЫБОРА ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С АНОМАЛЬНЫМИ МАТОЧНЫМИ КРОВОТЕЧЕНИЯМИ И ОЖИРЕНИЕМ....	130
6.1 Прогнозирование персонального риска рецидива АМК у женщин с ожирением в репродуктивном возрасте на основании клинико-анамнестических и молекулярно-генетических предикторов.....	130
6.2 Прогнозирование персонального риска рецидивов АМК при ожирении на основании иммуногистохимических предикторов.....	134
6.3 Алгоритм дифференцированного подхода к тактике ведения пациенток репродуктивного возраста с АМК и ожирением.....	135
ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	139
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	155
Выводы.....	156
Практические рекомендации.....	159
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	161
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	164

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Репродуктивное здоровье женщин играет важную роль в формировании уровня здоровья населения и демографического будущего государства. Здоровье матери определяет рождаемость, здоровье новорожденных и долгосрочное благосостояние общества в целом [4].

Значимыми показателями нормального функционирования женской репродуктивной системы выступают ритм и качество менструаций. Аномальное маточное кровотечение (АМК) рассматривают как один из частых вариантов нарушения менструального цикла. В структуре гинекологической заболеваемости у женщин репродуктивного возраста в РФ доля АМК составляет 30% [10].

Распространенность АМК в мире сильно разнится, колеблясь от 3% до 52% [210]. Эти вариации могут зависеть от использования терминологии и от того, какими методами (субъективными или объективными) была проведена оценка. Согласно существующей парадигме, у каждой третьей женщины когда-либо наблюдались симптомы АМК. Доказано, что АМК оказывает значимое негативное воздействие на различные аспекты жизни женщин, включая физическое, социальное, эмоциональное и материальное благополучие [147]. Кроме того, подтверждена связь обильных менструаций с увеличением материнской заболеваемости и смертности, особенно в когорте женщин, у которых ранее была диагностирована анемия, связанная с АМК [202].

Железодефицитная анемия (ЖДА) представляет собой отдельную составляющую проблемы у женщин с АМК, что подтверждают данные Donnez J. и соавт. (2022). Результаты их исследования свидетельствуют, что АМК может приводить к развитию ЖДА у большинства пациенток, варьируя от одной пятой до двух третей наблюдений [211]. Согласно глобальным оценкам, в мире страдают анемией около 30% женщин с АМК [216]. Имеются сведения, что у женщин с хроническими АМК возрастает риск преждевременной смертности [136]. Помимо медицинских аспектов, АМК существенно затрагивают экономическую

составляющую, связанную как с расходами системы здравоохранения на лечение данного недуга, так и с потерей доходов пациенток в результате временной утраты трудоспособности. В когорте пациенток, страдающих хроническими АМК, отмечается снижение производительности труда приблизительно на 30%, что в свою очередь отражается на доходе пациентки и ее работодателя [137].

Вместе с тем на сегодняшний день остается много открытых вопросов относительно АМК, вызванных дисфункцией эндометрия (АМК-Е). На практике, в структуре причин АМК, АМК-Е составляют порядка половины всех случаев [158]. Следует подчеркнуть отсутствие биомаркеров и предикторов прогнозирования, профилактики и персонификации ведения пациенток именно с АМК-Е.

Особую «проблему внутри проблемы» представляют женщины, страдающие АМК на фоне ожирения, особенно хроническими. На данный момент 39% населения Земли страдает ожирением или имеет избыточный вес [96]. Исследователи прогнозируют, что к 2025 году тенденция к росту численности населения с избыточной массой тела и ожирением сохранится, и тогда ожирением будут страдать не менее 21% женщин [148].

Проблема ожирения в большей степени связана с его последствиями и осложнениями, к которым оно приводит. Из соматических заболеваний это прежде всего сахарный диабет 2 типа (СД 2), сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), определенные типы рака, дислипидемия, а также новая коронавирусная инфекция (COVID-19) [38, 62, 151]. Касаясь заболеваний органов репродуктивной системы и нарушений ее функций, ожирение ассоциировано с ранним менархе, синдромом поликистозных яичников (СПЯ), АМК, нерегулярными менструациями и бесплодием [15, 87, 110, 114]. В контексте патогенеза АМК - ожирение признано одним из факторов риска гиперплазии (ГЭ) и рака эндометрия (РЭ), АМК-М [166, 176].

В настоящее время влияние ожирения на функциональную активность эндометрия, процессы его регенерации и восстановления во время нормального менструального кровотечения практически не изучено. Углубленное исследование механизмов формирования АМК-Е на фоне ожирения, уточнение характера

патогенетического вклада последнего, особенного в репродуктивном возрасте, позволит выявить новые терапевтические мишени у данной когорты пациенток, выделить контингент риска рецидивов и уменьшить нецелевое действие и побочные эффекты препаратов, назначаемых для лечения АМК, а также нивелировать предпосылки к развитию вторичной ЖДА, что имеет особое медико-демографическое значение.

**Степень разработанности темы.** Следует признать, что физиологический механизм остановки менструального кровотечения до сих пор окончательно не установлен. Известно, что эндометрий – уникальная ткань, способная восстанавливаться после каждой менструации без формирования рубца. Процесс восстановления эндометрия после отторжения включает в себя несколько этапов, таких, как разрешение воспаления, неоангиогенез (образование новых сосудов), ремоделирование и формирование новой ткани [164].

В настоящее время в парадигме контроля за кровопотерей предпочтение отдается гипоксии, как одному из основных механизмов запуска процессов восстановления поврежденных тканей [103]. Временная гипоксия, возникающая за счет сужения сосудов, стимулирует фактор, индуцируемый гипоксией -  $1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ), выступая тем самым в качестве триггера процессов регенерации эндометрия [104, 164, 210]. Особенностью HIF- $1\alpha$  является его способность индуцировать транскрипцию генов, связанных с реакцией на гипоксию, включая те, которые участвуют в формировании новых сосудов, энергетического метаболизма и восстановлении ткани [164]. Тот же механизм активирует целый ряд ангиогенных факторов, таких как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), тромбоцитарный фактор роста- $\beta$  (PDGF- $\beta$ ) и трансформирующий фактор роста- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) [36]. В период менструации HIF- $1\alpha$  непосредственно связывается с промотором гена VEGF [212]. Как показали результаты исследования Cousins F.L. et al. (2016), его концентрация в эндометрии максимальна именно тогда, когда гипоксия в ткани наиболее выражена, при чем в последующем снижаются оба фактора [108]. Эти экспериментальные наблюдения убедительно свидетельствуют о том, что именно гипоксия определяет запуск механизмов своевременного восстановления

поврежденной поверхности эндометрия в период менструации посредством активации HIF-1 $\alpha$ . Представляет интерес исследование, рассматривающее как одну из причин АМК дефект гипоксического ответа на основании снижения уровня экспрессии HIF-1 $\alpha$  в эндометрии. Эта же работа показала замедление регенерации эндометрия на мышинной модели при формировании нормоксических условий в перименструальную фазу [103, 107].

Особняком стоит вопрос об основных механизмах, участвующих в реализации АМК, обусловленных первичным заболеванием - дисфункцией эндометрия (АМК-Е). Есть данные, подтверждающие патогенетическое значение чрезмерного воспаления в эндометрии, замедленной его регенерации, а также нарушений ангиогенеза и регуляции вазоконстрикции спиральных артериол [164]. Аббератный ангиогенез остается одним из самых обсуждаемых процессов патогенеза АМК-Е, и, по современным представлениям, он по большей части связан с нарушением баланса про- и антиангиогенных факторов [36]. У женщин с обильными менструальными кровотечениями (ОМК) уровень экспрессии генов *VEGF-A*, *VEGF-1* и *VEGF-2* повышен, что может объяснить увеличение диаметра спиральных артериол, по сравнению с женщинами, имеющими нормальную менструальную кровопотерю [210]. Регуляцию функций эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), обладающей проангиогенным эффектом за счет синтеза оксида азота (NO), также осуществляет VEGF. Известно, что избыток NO может приводить к стимуляции вазодилатации, увеличению проницаемости эндотелиальных клеток и активации патологического неоангиогенеза [36].

Присутствие чрезмерного количества провоспалительных факторов и маркеров воспаления в эндометрии также может создавать предпосылки к нарушению созревания сосудистого компонента [91]. Не менее важен вклад в развитие АМК и ОКМ эндотелиальной дисфункции. Harmsen M.J. et al. (2019) обнаружили в эндометрии женщин с аденомиозом повышение экспрессии проангиогенных факторов, включая эндотелиальный маркер CD34+ [179]. Авторы пришли к выводу, что активация ангиогенеза может сопровождаться увеличением

проницаемости сосудов и их хрупкости, что, в свою очередь, может способствовать развитию АМК.

В мировой литературе есть целый ряд публикаций, посвященных роли ожирения в манифестации АМК-М на фоне ГЭ и РЭ, а также в реализации овуляторной дисфункции (АМК-О), в том числе у пациенток с СПЯ [88, 152, 178, 185, 198, 220]. Amgain K. et al. (2022) в своей работе продемонстрировали, что женщины с высоким индексом массы тела (ИМТ) или измененным индексом соотношения талии к бедрам чаще страдали АМК [46]. Однако, определения одного лишь ИМТ для прогноза риска ГЭ, РЭ и АМК в целом, безусловно, недостаточно [167].

Оценка ожирения в рамках фактора риска ГЭ и РЭ патогенетически оправдана ввиду увеличения внегонадного синтеза эстрогена жировой тканью [66]. Характерная для пациенток с ожирением гиперинсулинемия снижает уровень синтеза глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ). Это происходит за счет увеличения биодоступности инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1), что, в свою очередь, приводит к увеличению уровня эстрогенов и, следовательно, способствует пролиферации эндометрия [220]. Параллельно, жировые клетки вырабатывают спектр адипокинов, которые оказывают как местное, так и системное воздействие, способствуя чрезмерному росту эндометрия и стимулируя онкогенез [56]. Нарушения в синтезе гормонов в жировой ткани, с основным участием лептина и снижением выделения адипонектина, также могут способствовать развитию РЭ [180].

На сегодняшний день активно обсуждается роль ожирения в развитии дисфункции эндометрия у женщин с бесплодием. Исследователи сообщают о нарушении рецептивности эндометрия и снижении частоты благополучной имплантации бластоцисты у женщин с избыточной массой тела [87, 150]. Однако до сих пор не решены вопросы, касающиеся механизмов влияния ожирения на функцию эндометрия в рамках АМК-Е. Известно, что в рамках современной парадигмы ожирение рассматривается как хроническое воспалительное состояние, которое может системно воздействовать на ткани различных органов путем

создания условий для инфильтрации провоспалительными цитокинами, макрофагами и другими иммунными клетками, что в итоге создает в организме провоспалительный профиль, характеризующийся латентным, низкоуровневым воспалением [142]. Не является исключением и эндометрий. Персистирующее низкоуровневое воспаление, сопровождающее ожирение, создает благоприятную канцерогенную среду, формирующуюся из провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины 6 (IL-6) и 8 (IL-8), которые усиливают окислительный стресс и индуцируют повреждение дезоксирибонуклеиновой кислоты в эндометрии [79]. Исследование Naqvi A. et al. (2022) продемонстрировало, что снижение веса связано с уменьшением системного воспаления и привлечением защитных типов иммунных клеток в эндометрий, что подтверждает концепцию о роли иммунного надзора в профилактике РЭ [194].

Процесс регенерации поврежденного эндометрия может нарушаться и ввиду значительного притока провоспалительных цитокинов, формирующих состояние чрезмерного воспаления в ткани эндометрия. Результаты доклинического исследования показали, что у мышей, находившихся на диете с высоким содержанием жиров, в ткани эндометрия имеет место локальное повышение концентрации медиаторов, значимых для воспаления [158]. Holdsworth-Carson S.J. et al. (2020) также описали повышение уровня медиаторов воспаления в ткани эндометрия женщин с ожирением и эндометриозом, однако значимых различий с нормовесными в экспрессии провоспалительных цитокинов авторы не получили [157].

Впервые взаимосвязь АМК-Е с ожирением была продемонстрирована в работе Nouri M. et al. (2014), которые отметили более высокую частоту встречаемости АМК-Е у женщин с избыточной массой тела и ожирением [149]. Учитывая значение гипоксии в регенерации эндометрия, Cousins F.L. et al. (2016) и Maubin J.A. et al. (2018) в своих работах изучили опосредованное влияние ожирения на функциональную активность эндометрия через гипоксическую реакцию, показав, что у мышей с нормальной массой тела физиологическая гипоксия наступает через 8 часов после прекращения воздействия прогестерона. В

то же время у мышей с избыточным весом и ожирением этот процесс происходит лишь через 24 часа и сопровождается уменьшением пролиферации эпителиальных клеток в эндометрии и повышением локальной концентрации медиаторов воспаления [103, 108].

Клинические исследования данной проблемы продолжаются. Так, в работе Reavey J.J. et al. (2021) продемонстрирована более высокая экспрессия, регулируемых гипоксией генов (*VEGF*, *ADM*, *LDHA*, *SLC2A1*) в эндометрии женщин с ОМК и нарушением жирового обмена в сравнении с нормовесными. Однако статистическая значимость этого различия не была достигнута, что может быть обусловлено недостаточно большой выборкой пациенток [158]. Повышение активности HIF-1 $\alpha$  отмечено у пациенток с носительством аллеля *T* по *HIF-1 $\alpha$  C1772T*, что может привести к усилению экспрессии чувствительных к гипоксии генов, важных для ангиогенеза, метаболизма и выживания клеток [42]. Это демонстрирует возможную генетическую детерминированность данного состояния. К подтверждению последнего в работе Kaugusuz I. et al. (2022) был определен высокий риск формирования АМК-Е при носительстве полиморфных вариантов *VEGF* - 2578C > A и - 1154G > A [117]. Также отмечена взаимосвязь АМК пубертатного периода с носительством полиморфных вариантов генов *NOS3* 786T > C и *ESR1* 397T > C [16, 17].

Вышенаписанное подтверждает перспективность выявления генетических предикторов взаимосвязи состояния эндометрия и ожирения у пациенток с рецидивами АМК, что позволит определить новые подходы к менеджменту женщин изучаемой когорты и обосновать приоритет его предиктивной парадигмы. С учетом вышеизложенного, в этом направлении особый интерес вызывают морфологические маркеры и генотипы, контролирующие ангиогенез, гипоксию, воспаление и пролиферацию.

Таким образом, в настоящее время доступные сведения, которые позволяют оценить влияние ИМТ на объем менструальной кровопотери, весьма ограничены. Это затрудняет должное консультирование женщин в клинической практике. Недостаточно изучены морфофункциональные отличия эндометрия и

патоморфологические и генетические детерминанты АМК, в когорте пациенток с ожирением.

Расширение знаний о взаимосвязи между дисфункцией эндометрия и ожирением в контексте патогенеза АМК будет способствовать обоснованным клиническим решениям и консенсусу между врачами и пациентками относительно модификации образа жизни как важной составляющей лечения и реабилитации при АМК. Все вышеизложенное обусловило актуальность и выбор темы настоящего исследования.

**Цель исследования:** улучшить исходы лечения аномальных маточных кровотечений у пациенток репродуктивного возраста, страдающих ожирением.

Для выполнения цели были поставлены следующие **задачи:**

1. Установить структуру причин аномальных маточных кровотечений (АМК) у женщин репродуктивного возраста и выявить ее особенности у пациенток с ожирением.

2. Дать клиническую характеристику пациенток репродуктивного возраста с АМК и ожирением и установить ее отличия в сравнении с нормовесными.

3. Определить клинико-anamнестические факторы риска рецидивов АМК у женщин репродуктивного возраста с ожирением.

4. Исследовать возможную генетическую детерминированность патогенеза АМК у пациенток изучаемой когорты.

5. Выявить отличия экспрессии маркеров ангиогенеза и пролиферации (ARID1a, CD34+, eNOS) в эндометрии пациенток репродуктивного возраста с ожирением в сравнении с нормовесными, а также при рецидивах АМК в сравнении с первым эпизодом.

6. Исследовать корреляционную взаимосвязь экспрессии маркеров ангиогенеза и пролиферации (ARID1a, CD34+, eNOS) в эндометрии пациенток изучаемой когорты.

7. Установить патогенетически значимую взаимосвязь носительства полиморфизмов генов-кандидатов *eNOS* (T786C), *VEGF-A* (C2578A), *VEGF-A* (G-634C), *HIF-1 $\alpha$*  (C1772T), *IL6* (C174G), *ESR1* (G/A), *PPAR-G* G482A и экспрессии

белков ARID1a, CD34+ и eNOS в эндометрии пациенток с АМК и ожирением.

8. Выявить предикторы риска рецидивов АМК при ожирении в репродуктивном возрасте.

9. Разработать модели прогноза риска рецидивов АМК у пациенток с ожирением в репродуктивном возрасте и обосновать алгоритм дифференцированного подхода к тактике ведения пациенток изучаемой когорты.

**Научная новизна.** Разработана принципиально новая научная идея, существенно дополняющая современную парадигму патогенетической роли ожирения в развитии АМК и их рецидивов. Определены основные звенья патогенеза АМК, обусловленного дисфункцией эндометрия (АМК-Е) на фоне ожирения: патологическая активация неоангиогенеза, дефект гипоксического ответа, замедление регенерации и восстановления ткани эндометрия.

Получены приоритетные данные, доказывающие взаимосвязь носительства полиморфных вариантов генов *eNOS T786C* и *VEGF C2578A* и риска рецидивов АМК в репродуктивном возрасте у женщин с ожирением. Углублены существующие представления о патоморфологических и иммуногистохимических (ИГХ) особенностях эндометрия у пациенток изучаемой когорты. Впервые исследована экспрессия белка, обогащенного АТ-доменом взаимодействия 1А (ARID1a), а также маркеров ангиогенеза CD34+ и eNOS в эндометрии женщин с АМК-Е на фоне ожирения и у нормовесных, определена роль ангиогенного фактора в патогенезе АМК-Е при ожирении.

Принципиально обновлены имеющиеся сведения о факторах риска рецидивов АМК у женщин с ожирением, установлены клиничко-анамнестические, молекулярно-генетические и ИГХ предикторы их возникновения. На основании полученных данных разработаны математические модели прогноза риска рецидивов АМК при ожирении в репродуктивном возрасте.

**Теоретическая и практическая значимость.** В результате исследования существенно расширены и углублены представления о патогенезе АМК-Е у женщин с ожирением. Доказана взаимосвязь носительства генотипа *TC* по *eNOS T786C* и *CA* по *VEGF C2578A* с развитием рецидивов АМК в изучаемой когорте.

Описаны ИГХ особенности эндометрия у женщин репродуктивного возраста с АМК-Е при ожирении.

Установлены патогенетически значимые взаимосвязи между клинико-анамнестическими, молекулярно-генетическими и ИГХ параметрами пациенток с ожирением, показана роль этих параметров в формировании особенностей структуры причин и манифестации рецидивов АМК в изучаемой когорте.

Научно обоснован комплексный предиктивный подход к ведению пациенток с АМК и ожирением, который предполагает выделение групп риска рецидивов АМК, обоснование необходимости углубленного обследования женщин и мониторинг риска рецидивов АМК. Практическому здравоохранению предложена персонифицированная модификация рутинного алгоритма ведения пациенток с ожирением и АМК в анамнезе, с использованием прогностических моделей.

**Методология и методы исследования.** Настоящее исследование было открытым, наблюдательным, комбинированным (включало ретро- и проспективный этапы). Ретроспективный этап охватил женщин репродуктивного возраста, госпитализированных в гинекологический стационар по поводу АМК, которые были стратифицированы на две группы в зависимости от ИМТ: в первую группу вошли пациентки с ИМТ  $> 30 \text{ кг/м}^2$ , во вторую группу – нормовесные (ИМТ=18,5-24,9  $\text{кг/м}^2$ ). Цель ретроспективного этапа заключалась в выявлении особенностей структуры причин АМК у женщин с ожирением. Массив данных для анализа на ретроспективном этапе формировали путем выкопировки из историй болезни.

Второй этап – проспективный, предусматривал углубленное обследование пациенток с АМК в репродуктивном возрасте, с целью выявления клинико-анамнестических, молекулярно-генетических и ИГХ факторов риска и предикторов их рецидива при ожирении. Исследуемую когорту пациенток формировали согласно заданным критериям включения. На этом этапе было проведено анкетирование по специально разработанной анкете-опроснику (сведения дополняли информацией из первичной медицинской документации и

данными, полученными в ходе сбора анамнеза и обследования), был выполнен забор периферической крови с последующим молекулярно-генетическим исследованием полиморфизма генов *eNOS* (T786C rs2070744), *VEGF-A* (C2578A rs699947), *VEGF-A* (G-634C, rs2010963), *HIF-1 $\alpha$*  (C1772T, rs11549465), *IL6* (C174G, rs1800795), *ESR1* (G/A rs2228480), *PPAR-G* (Gly482Ser, rs8192678), был осуществлен забор биоптатов эндометрия с помощью отдельного диагностического выскабливания или методом аспирационной биопсии (для основной группы – в момент АМК, для контрольной – на 2-3й день менструального цикла) с последующим патоморфологическим и ИГХ исследованием. В ходе исследования использовали: клинико-эпидемиологический, сонографический, молекулярно-генетический, патоморфологический и ИГХ, с последующей математико-статистической обработкой массива полученных данных.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Аномальное маточное кровотечение (АМК) служит показанием к госпитализации у каждой пятой пациентки гинекологического стационара (20,4%), 57,0% этих женщин страдают ожирением. В структуре причин АМК преобладают гиперплазия эндометрия (33,7%), дисфункция эндометрия (25,9%) и полип тела матки (23,3%). Особенностью пациенток с ожирением является более высокий удельный вес АМК, обусловленных дисфункцией эндометрия (31,7% против 18,4% у нормовесных,  $p < 0,001$ ).

2. Предикторами риска рецидивов аномальных маточных кровотечений в репродуктивном возрасте при ожирении следует считать: наличие в анамнезе воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ) (ОШ=5,7; 95% ДИ: 1,3–26,4), курение (ОШ=5,0; 95% ДИ: 1,4–18,2), длительность менструации  $\geq 6$  дней (ОШ=2,3; 95% ДИ: 1,4–3,7), степень защиты используемых гигиенических средств  $\geq 6$  (ОШ=1,9; 95% ДИ: 1,1–3,4), окружность талии  $\geq 102,5$  см (ОШ=1,04; 95% ДИ: 1,01–1,07), носительство гетерозиготного генотипа *TC* по *eNOS* T786C (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,1–7,6) и гетерозиготного генотипа *CA* по *VEGF-A* C2578A (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,2–7,0), площадь экспрессии в строме эндометрия CD34+ выше 2,4% (ОШ=6,5; 95% ДИ: 1,6–28,4) и eNOS - выше 9,65% (ОШ=2,1; 95% ДИ: 1,1–4,4).

3. Одним из ведущих механизмов патогенеза рецидивов аномальных маточных кровотечений в репродуктивном возрасте при ожирении являются дефект гипоксического ответа, патологическая активация неоангиогенеза и замедление регенерации ткани эндометрия на фоне низкоуровневого воспаления, что подтверждают увеличение экспрессии эндотелиальных маркеров CD34+ и eNOS в строме эндометрия, а также увеличение экспрессии транскрипционного фактора ARID1a в железах эндометрия.

4. Дефект гипоксического ответа и патологическая активация неоангиогенеза в эндометрии пациенток репродуктивного возраста с ожирением при аномальном маточном кровотечении могут быть генетически детерминированы, на что указывает зависимость уровня экспрессии eNOS в строме эндометрия от носительства гетерозиготного генотипа *TC* по *eNOS T786C* и гетерозиготного генотипа *CA* по *VEGF-A C2578A* ( $p < 0,03$ ).

5. Предложенная персонифицированная модификация алгоритма ведения женщин репродуктивного возраста, страдающих АМК и ожирением, основана на пошаговом использовании прогностических моделей с целью стратификации пациенток по наличию риска рецидивов. Это позволяет обосновать/рационализировать потребность в углубленном обследовании женщин и оценить в динамике эффективность целенаправленных профилактических мероприятий.

**Степень достоверности и апробация результатов работы.** Для сбора, корректировки и систематизации данных использовали электронные таблицы программы Microsoft Office Excel 2016. Массив данных, собранных в процессе исследования, был статистически обработан с помощью специализированного программного обеспечения IBM SPSS Statistics v.26 (разработчик - IBM Corporation). Данные анализировали с применением параметрических и непараметрических методов. Описание количественных показателей, имеющих нормальное распределение, выполняли путем средней арифметической ( $M$ ) и стандартного отклонения ( $\pm SD$ ), 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае количественных показателей, отличных от нормального распределения, для

их анализа использовали медиану (Me) и интерквартильный размах ( $Q_1-Q_3$ ). Категориальные данные представляли с помощью абсолютных значений (n) и процентных долей (%). Для сравнения групп по количественным переменным использовали t-критерий Стьюдента, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим post-hoc анализом, критерий Манна-Уитни, критерий Краскела-Уоллиса в зависимости от распределения и количества сравниваемых групп. Сравнение групп по номинальному признаку осуществляли с помощью точного критерия Фишера или критерия  $\chi^2$  Пирсона. Различия показателей считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

В случае частоты явлений в каждой группе, не равной 0 или 100%, рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95% ДИ. ОШ определяли как отношение шанса наступления события в группе, подвергнутой данному фактору риска, к шансу наступления события в группе, в случае отсутствия данного фактора. При получении  $ОШ > 1$  считали, что фактор увеличивает шанс развития события (прямая связь), при  $ОШ < 1$  – что фактор уменьшает шанс развития события (обратная связь).

В ходе корреляционного анализа использовали коэффициенты ранговой корреляции Спирмена или Пирсона, в зависимости от характера распределения данных. Полученные значения коэффициента корреляции интерпретировали в соответствии со шкалой Чеддока:  $r < 0,1$  – связь отсутствует, 0,1–0,3 – слабая, 0,3–0,5 – умеренная, 0,5–0,7 – заметная, 0,7–0,9 – высокая, 0,9–0,99 – очень высокая.

С целью построения прогностической модели риска исходов использовали метод бинарной логистической регрессии. Диагностическую значимость количественных переменных при прогнозировании исходов, а также качество прогностической модели определяли с помощью метода ROC-кривых.

Работа была проведена в рамках основного направления научно-исследовательской деятельности кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского института (МИ) РУДН «Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально-экономических условиях» (номер государственной

регистрации 01.9.70 00 7346, шифр темы 317712), а также в рамках инициативной темы № 030145-0-000 «Разработка методики прогнозирования и профилактики аномальных маточных кровотечений при ожирении у женщин репродуктивного возраста», выполняемой кафедрой акушерства и гинекологии с курсом перинатологии МИ РУДН (руководитель темы – засл. деятель науки РФ, д.м.н., проф. Хамошина М.Б.)

Основные положения работы доложены, обсуждены и одобрены на: III Общероссийской научно-практической конференции для акушеров-гинекологов «Оттовские чтения» (Москва, 2021); IX (XXVIII) Национальном диабетологическом конгрессе с международным участием (Москва, 2022); IV Общероссийской научно-практической конференции акушеров-гинекологов «Оттовские чтения» (Москва, 2022); XVII Общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: Версии и Контраверсии» (Сочи, 2023); The 30th European Congress on Obesity (Dublin, 2023); The 15th Congress of the European Society of Gynecology (Amsterdam, 2023); V Общероссийской научно-практической конференции акушеров-гинекологов «Оттовские чтения» (Санкт-Петербург, 2023; Диплом, III место); Международном юбилейном конгрессе КАРМ «Современные подходы к лечению бесплодия, ВРТ: настоящее и будущее» (Алматы, 2023); V Международной научной конференции РУДН «Современные тенденции исследований в области пластической хирургии и эстетической медицины» (Москва, 2024; Лауреат сессии); научно-практической конференции «Здоровье трех поколений» (Новосибирск, 2024).

Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику подразделения ГБУЗ «ГКБ им. В.М. Буянова» ДЗ г. Москвы, а также в учебный процесс на додипломном и последипломном этапах высшего медицинского образования на кафедре акушерства и гинекологии с курсом перинатологии и кафедре акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФНМО МИ РУДН.

Автор участвовала в выборе направления исследования, разработке его цели и задач, лично выкопировала и проанализировала данные 632 стационарных карт

пациенток с АМК в репродуктивном возрасте, курировала 159 пациенток с АМК и 59 пациенток контрольной группы, собственноручно производила забор биологического материала для последующих исследований, лично сделала 1500 микрофотографий образцов эндометрия с ИГХ реакцией с последующей оценкой ИГХ окрашивания маркеров и расчетом доли площади занимаемой экспрессии. Автором лично произведена статистическая обработка массива данных, самостоятельно написана диссертационная работа. Все выводы, практические рекомендации и научные положения сформулированы лично автором, самостоятельно подготовлены к публикации все научные статьи, доклады на конференциях и конгрессах.

По материалам диссертации опубликованы 19 научных работ в отечественной и зарубежной печати, в том числе 8 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ или РУДН (К1 – 7; К2 – 1), и 7 публикаций – в изданиях, цитируемых в базах Scopus и/или Web of Science.

# ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АНОМАЛЬНЫХ МАТОЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЯХ В РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ И ОЖИРЕНИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

## 1.1 Аномальные маточные кровотечения: актуальность, причины, факторы риска

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) трактует понятие здоровья как состояние полного физического, психического и социального благополучия, а не просто отсутствие болезней или недугов [5, 112]. В контексте данной дефиниции репродуктивное здоровье, и, в частности, нормальный менструальный цикл, являются неотъемлемой и фундаментальной составляющей здоровья женщины как такового. Это обусловлено тем, что именно уровень репродуктивного здоровья в подавляющем большинстве случаев определяет успешность таких процессов, как зачатие, вынашивание беременности и деторождение. Ритм и качество менструаций выступают наиболее значимыми показателями, отражающими нормальное функционирование женской репродуктивной системы. Следует отметить, что расстройства менструации фактически оказывают негативное влияние на качество жизни как минимум трети женского населения фертильного возраста на всей планете [97, 136].

Согласно определению, предложенному Международной Федерацией гинекологии и акушерства (FIGO), нормальный менструальный цикл характеризуется четырьмя ключевыми параметрами: регулярностью, частотой, продолжительностью и объемом кровопотери. В норме менструальные кровотечения возникают с интервалом от 24 до 38 дней и длятся не более 8 дней. Регулярность менструаций зависит от возраста женщины и может варьироваться в пределах 7-9 дней [202]. Отсутствие менструации определяют как аменорею, в то время как менструальные циклы с интервалом менее 24 дней считают частыми, а циклы продолжительностью более 38 дней - редкими. Менструальное кровотечение, превышающее 8 дней, классифицируют как длительное. Оценка объема кровопотери, как правило, носит субъективный характер. ОМК официально

дефинируют как чрезмерную кровопотерю, оказывающую негативное влияние на благополучие (качество жизни) женщины [13,147]. Кровотечение, возникающее между ожидаемыми менструациями, определяют как межменструальное. Таким образом, АМК с точки зрения установления диагноза — это кровотечения, которые являются чрезмерными по длительности (более 8 дней), объему (более 80 мл) и/или частоте (менее 24 дней). Маточное кровотечение, требующее немедленного вмешательства для предотвращения массивной кровопотери, определяют как острое, эпизоды АМК, повторяющиеся более 3х месяцев – как хроническое [10, 202].

АМК, возникающие в репродуктивный период жизни женщины, хотя и редко представляют непосредственную угрозу для жизни в развитых странах, тем не менее, часто оказывают существенное влияние на качество жизни и общее здоровье. Хронические АМК приводят к повышенной утомляемости, снижению работоспособности и ограничению социальной активности, а также влекут за собой значительные затраты на средства личной гигиены и лекарственные препараты [14, 145]. Негативное воздействие АМК распространяется на физическое, социальное, эмоциональное [74] и материальное благополучие женщины, а также доказательно ассоциировано с повышением риска преждевременной смерти [136]. Кроме того, АМК сопряжено с увеличением риска материнской заболеваемости и смертности среди женщин, страдающих ранее существовавшей ЖДА, связанной с данным состоянием [22, 32, 202]. Несмотря на то, что обращение женщин за медицинской помощью при манифестации АМК чаще определяется физическими и социальными факторами, около 50% пациенток отмечают наличие симптомов тревожности и депрессивного расстройства, ассоциированных с клиническими проявлениями кровотечения из половых путей [210].

Хроническое АМК представляет собой серьезное бремя и для экономики, работодателей, и для самих женщин и их семей. Согласно оценкам, проведенным в 2007 году, общие ежегодные прямые и косвенные расходы, связанные с АМК, в США превышали 37 миллиардов долларов [28, 95]. Несмотря на то, что системы здравоохранения прилагают усилия для устранения последствий АМК,

практическому применению мер по ранней профилактике развития этого заболевания уделяется недостаточное внимание. Временное ограничение трудоспособности, обусловленное АМК, суммарно приводит к значительной потере в заработной плате. Имеются данные, свидетельствующие о том, что хроническое АМК ассоциировано со снижением производительности труда приблизительно на 30%, что оказывает соответствующее влияние на доход пациентки и влечет за собой недовольство ее работодателя. Среди женщин репродуктивного возраста это может негативно сказываться на качестве жизни, за счет финансовых потерь, снижения работоспособности, явно, как и на ухудшении состояния здоровья, поскольку повышается потребность в медицинской помощи [8, 28, 70, 98, 219]. В исследовании, проведенном Sonia Ponzo et al. (2022) с участием 1867 женщин, было выявлено, что менструальный цикл оказывает умеренное либо значительное влияние на производительность труда женщин на рабочем месте. При этом почти половина опрошенных женщин (45,2%) сообщили о случаях вынужденного невыхода на работу по причине расстройств менструации [137].

В развивающихся странах высокая распространенность дефицита железа среди женщин обусловлена рядом таких факторов, как неполноценное питание, ограниченный доступ или полное отсутствие возможности простого восполнения запасов железа в организме, а также ОМК [145]. Установлено, что менструальная кровопотеря объемом более 80 мл может приводить к формированию клинически манифестной ЖДА [44]. Сообщалось, что АМК вызывают ЖДА у 20% - 67% женщин [211]. Хронические АМК, в свою очередь, являются важной потенциально управляемой причиной ЖДА [30, 70]. В среднем, 30-40% женщин во всем мире страдают анемией вследствие АМК. В Южной Азии, восточном Средиземноморье и Африке эта цифра возрастает примерно до 60%, вероятно, из-за сочетания дефицита питания, АМК и многоплодной беременности [93]. Развитие анемии у пациенток, а также наличие дефицита железа без верификации анемии, приводит к таким симптомам, как повышение утомляемости, снижение физической работоспособности, головные боли и нарушения когнитивных функций [57, 144].

Беременные, страдающие ЖДА, значимо больше подвержены риску рождения маловесных детей, а также детей с неврологическими заболеваниями [50].

По оценкам Национального института здравоохранения и передового опыта (NICE) и FIGO, примерно у трети женщин репродуктивного возраста во всем мире в какой-то момент возникают АМК [146, 202]. Многие исследования ограничены лишь ОМК, но, если включить туда нерегулярные менструации и межменструальные кровотечения, распространенность расстройств менструации возрастает до 35% и выше [202].

Частота встречаемости АМК в России также колеблется около 30% среди женщин репродуктивного возраста и достигает 70% в перименопаузальном периоде [10]. Точные эпидемиологические данные относительно АМК отсутствуют из-за субъективности подхода к менструальным нарушениям и недооценки основных жалоб и симптомов самими пациентками [193]. Субъективно взгляд на ОМК может варьироваться в зависимости от культурных и социальных точек зрения, поэтому трудно сравнивать субъективные оценки пациентками объема и степени нарушений менструаций по странам или даже в рамках отдельных демографических групп в популяции. Вместе с тем весьма информативно, что в возрасте от 30 до 49 лет ежегодно обращаются к врачу по причине ОМК примерно 1 из 20 женщин, а нарушения менструального цикла составляют 12% всех обращений в гинекологические службы [147].

Все вышеописанное оказывает существенное интегральное влияние на ресурсы систем здравоохранения: ежегодно порядка 5% женщин репродуктивного возраста нуждаются в медицинской помощи в связи с симптомами или осложнениями АМК. Несмотря на то, что треть всех визитов связана с одним или сразу несколькими симптомами АМК, только половина пациенток обращаются в медицинское учреждения. Оставшаяся половина ввиду отсутствия осведомленности считают чрезмерную менструальную кровопотерю нормальной и до поры до времени не прибегают к помощи медработников [74, 145].

Многие женщины, страдающие АМК в репродуктивном возрасте, по этой причине подвергаются необоснованным хирургическим вмешательствам в объеме

раздельного диагностического выскабливания или гистерэктомии. В связи с этим остается актуальным поиск факторов риска и предикторов данной нозологии с целью ее своевременного прогнозирования и профилактики, особенно повторных и неоднократных эпизодов острых АМК.

В настоящее время нет четкого представления о том, в какой возрастной период АМК встречаются чаще. В большей степени это зависит от причин, приводящих к развитию острого/хронического АМК. Так, для пациенток с АМК-О характерен возраст старше 40 лет [71], в то же время возраст старше 45 лет ассоциирован с возникновением структурных изменений эндометрия, проявляющихся вариантами АМК из категории PALM [123].

На данный момент все еще нет полного понимания об облигатных факторах риска АМК и их рецидивов, однако исследования в этой области активно ведутся. Так в исследовании Gerema U. et al. (2022) как один из факторов абсолютного риска рассматриваются нарушения менструального цикла, как таковые, в частности, ОМК, олигоменорея, межменструальные кровотечения и аменорея [29], при этом обильные менструации наиболее характерны для пациенток с миомой матки, в то время как межменструальные кровянистые выделения выявлялись у большинства пациенток с полипами тела матки.

В своей работе Schaffrath S.F.G. et al. (2019) также отметили межменструальные кровянистые выделения и ОМК как значимые факторы риска АМК и их рецидивов, вместе с этим их предикторами, ценными для прогнозирования АМК они считали ИМТ  $> 30$  кг/м<sup>2</sup>, отсутствие родов в анамнезе и продолжительность менструального кровотечения более 9 дней [174].

По данным исследования Kocavska A. et al. (2021), у пациенток с АМК значимо чаще встречается дисфункция щитовидной железы, в частности гипотиреоз [121]. В работе Vaidya R. et al. (2022) также отмечена ассоциация с АМК таких хронических экстрагенитальных заболеваний (ХЭГЗ), как болезни щитовидной железы, СД 2 типа и артериальная гипертензия, что позволяет их рассматривать как одних из многих факторов риска рецидивов АМК [169]. Несмотря на активное изучение возможностей прогнозирования АМК,

существующие на сегодняшний день сведения, оставляют много вопросов нерешенными и требуют дополнительных целенаправленных исследований.

Таким образом, АМК в детородном возрасте являются серьезной проблемой современной медицины, оказывающей многогранное негативное влияние на качество жизни, физическое и психическое здоровье, социальную активность и экономическое благополучие женщин, многие из которых еще не реализовали свой репродуктивный потенциал. Высокая распространенность, достигающая в популяции 30-35%, в сочетании с существенным бременем для систем здравоохранения и значительными экономическими потерями, обусловленными снижением производительности труда, диктует необходимость совершенствования мер ранней профилактики и адекватного лечения АМК. Особого внимания заслуживает аспект недооценки значимости симптомов заболевания самими пациентками, что приводит к несвоевременному обращению за медицинской помощью. В этой связи актуальной задачей представляется повышение осведомленности как самих пациенток, так и медицинских специалистов о важности своевременной диагностики и качественной профилактики и лечения АМК с целью предотвращения серьезных последствий для репродуктивного здоровья, а разработка технологий прогноза риска АМК и их рецидивов приобретает важнейшее медико-социальное и медико-демографическое значение.

## **1.2 Менструация: местные механизмы, регулирующие нормальное менструальное кровотечение**

Изучение механизмов, лежащих в основе менструаций, имеет решающее значение для понимания патогенеза АМК. Еще в прошлом столетии менструаций у женщины за весь период жизни насчитывалось порядка 40, что определяли длительные периоды аменореи во время беременности и лактации. На сегодняшний день в экономически развитых странах женщины могут ожидать до 400 и больше менструаций за всю жизнь [140]. Интересно, что продолжительность менструаций за всю жизнь расценивается как маркер риска РЭ [78].

Менструальный цикл – сложный биологический процесс, в основе которого лежит равновесие между пролиферацией, децидуализацией, воспалением, гипоксией, апоптозом, гемостазом, сужением сосудов и, наконец, восстановлением и регенерацией ткани. Стадия менструального цикла определяется преобладающей эндокринной средой, оказывающей существенное влияние на структуру и функцию эндометрия.

Во время менструального цикла эндометрий человека каждый месяц подвергается последовательному воздействию циркулирующих в яичниках половых стероидов, которые имеют решающее значение для регуляции роста и дифференцировки эндометрия [115]. Проллиферативная фаза менструального цикла определяется преобладанием уровня эстрадиола, способствующего росту и пролиферации эндометрия. После овуляции начинается секреторная фаза эндометрия, когда высокие уровни прогестерона, вырабатываемого желтым телом, приводят к морфологическим изменениям эндометрия для подготовки к имплантации и поддержания механизмов, необходимых в ранние сроки беременности [210]. Отсутствие имплантации бластоцисты запускает регресс желтого тела, в результате чего снижается уровень прогестерона. Это вызывает ряд иных морфологических изменений в эндометрии, таких, как повышение проницаемости сосудов, отек, увеличение кровотока, инфильтрация ткани большим количеством лейкоцитов [192]. Предполагается, что снижение концентрации прогестерона имеет два основных эффекта: повышение уровня цитокинов и простагландинов в эндометрии и, следовательно, приток лейкоцитов, а также активация матриксной металлопротеиназы (ММП) и разрушение стромальных клеток эндометрия. Считают, что действие ММП не зависит от отмены прогестерона после первоначальной воспалительной реакции [60].

Эндометрий является сложной и взаимосвязанной системой, включающей в себя люминальный и железистый эпителий, строму и сосудистый компонент. В течение всего менструального цикла, начиная с ранней стадии пролиферативной фазы и заканчивая поздней стадией секреторной фазы, железистый эпителий и стромальные клетки проявляют гетерогенность, что позволяет им адаптироваться

к переменным условиям окружающей среды и активировать при необходимости резервные механизмы [60].

Менструация интегрально зависит от тщательно скоординированных эндокринных, иммунных, сосудистых и гемостатических реакций, направленных на то, чтобы ограничить кровопотерю и обеспечить оптимальное восстановление слизистой оболочки матки. Таким образом, подавление или чрезмерная активация биохимических механизмов, участвующих в этом процессе, может привести к патологическим клиническим проявлениям [213].

Эндометрий матки подвергается повторяющемуся физиологическому циклу повреждения и восстановления тканей циклично каждый месяц без последующего формирования рубцов и потери функции [140]. Локальные изменения в эндометрии во время менструации напоминают воспалительные явления. Наблюдается увеличение проницаемости и хрупкости кровеносных сосудов эндометрия, разрушение тканей и приток клеток врожденного иммунитета в эндометрий, особенно нейтрофилов и макрофагов. Падение концентрации прогестерона и эстрадиола вызывает локальный апоптоз эндометрия, воспаление, гипоксию и разрушение тканей. Процессы, лежащие в основе менструальной фазы, состоят из двух компонентов, первый из которых зависит от прогестерона, тогда как второй от него не зависит. После снижения влияния овариального прогестерона, противовоспалительного гормона, эндометрий подвергается воздействию местной среды, богатой цитокинами и простагландинами. Локально протекающие клеточные и молекулярные события, которые происходят во время менструации, включают апоптоз эндометрия, приток медиаторов воспаления и индукцию экспрессии ММП [120, 210].

Используя тщательно рассчитанные сроки установки и удаления прогестероновых имплантатов на моделях менструации у приматов (кроме человека) и мышей, было продемонстрировано, что в фазе менструации существует порог, когда эндометрий больше не реагирует на противовоспалительное действие прогестерона и менструальное кровотечение становится неизбежным [27]. Снижение уровня прогестерона во время поздней секреторной фазы, способствует

высвобождению ядерного фактора транскрипции карра В (NFκB) из его связи с ингибирующими белками, такими как IκB, что усиливает экспрессию медиаторов воспаления, включая цитокины [фактор некроза опухоли (TNF), интерлейкин-1 (IL-1), IL-6] и хемокины [лиганд 2 хемокина мотива C-C (CCL2), IL-8 (CXCL8/IL-8) [120]. Согласно современным представлениям, ММП признаны ответственными за отторжение верхних слоев эндометрия во время менструации [85, 132], хотя также была предложена гипотеза о вкладе активных форм кислорода [154]. Затем эндометрий подвергается реэпителизации и разрастанию стромы в фазе эффективного восстановления для поддержания функции в последующем цикле [164].

Точный процесс отторжения и восстановления эндометрия во время менструации изучен недостаточно. Известно, что перименструальный эндометрий характеризуется отеком ткани, повышением кровотока и проницаемости сосудов, а также увеличением экспрессии простагландинов, цитокинов и хемокинов, которые секретируют децидуальные клетки в ответ на снижение концентрации прогестерона. Считается, что продукция этих факторов стимулирует приток воспалительных клеток, таких как нейтрофилы и популяции макрофагов/моноцитов [120]. Было показано, что индукция избыточного воспаления в модельных системах связана с нарушением репарации и фиброзом [84] и может лежать в основе некоторых болезней эндометрия, включая АМК/ОМК [164].

После завершения отторжения эндометрия возникает необходимость в контроле интенсивности воспалительных процессов, которые привели к разрушению тканей, для создания условий, определяющих возможность регенерации. Ответственными за ограничение воспалительной реакции выступают несколько противовоспалительных медиаторов. В литературном обзоре Kirkwood P.M. et al. (2022) была продемонстрирована важная роль воспалительных элементов в осуществлении программы репарации ткани эндометрия. Так, применение различных антител против воспалительных клеток приводило к задержке восстановления эндометрия, которая была признана следствием

истощения нейтрофилов и потери их функциональной активности [119]. Напротив, в своем исследовании Qian L.W. et al. (2016) показали взаимосвязь нарушений репарации эндометрия и избытка воспалительной реакции [84]. Важно, что все эти исследования демонстрируют роль воспаления в регенерации эндометрия.

Таким образом, менструальный цикл представляет собой сложный биологический процесс, в основе которого лежит тонкий баланс между пролиферацией, воспалением, гемостазом и регенерацией эндометрия. Менструальное кровотечение, несмотря на свою разноплановость, служит результатом тщательно скоординированного взаимодействия эндокринных, иммунных, сосудистых и гемостатических факторов, обеспечивающих, в конечном итоге, ограничение кровопотери и оптимальное восстановление ткани эндометрия. Ключевую роль в инициации менструации играет снижение уровня прогестерона, которое приводит к активации провоспалительных медиаторов, включая цитокины, хемокины и ММП. Эти факторы способствуют притоку иммунных клеток, повышению проницаемости сосудов и деградации внеклеточного матрикса, что в итоге приводит к отторжению функционального слоя эндометрия. В то же время, для обеспечения адекватной регенерации ткани после завершения менструального кровотечения, необходим строгий контроль воспалительной реакции с участием противовоспалительных медиаторов. Нарушение баланса про- и противовоспалительных факторов может лечь в основу патогенеза клинической манифестации АМК. Дальнейшее изучение молекулярных механизмов, регулирующих процессы повреждения и восстановления эндометрия во время менструации, имеет решающее значение для понимания этиологии АМК и разработки новых терапевтических стратегий.

### **1.3 Аномальные маточные кровотечения, обусловленные дисфункцией эндометрия**

С целью стандартизации подходов к ведению пациенток в 2011 году FIGO разработана классификация возможных причин АМК (аббревиатура PALM-

СОЕIN, 2011; 2018) [3, 24, 89, 202]. Последняя предусматривает девять основных категорий, каждая буква которой обозначает причину АМК. Группу PALM относят к структурным (органическим) причинам АМК, как правило, представляющим собой отдельные категории, которые можно диагностировать с помощью методов визуализации или патоморфологического исследования: полип (АМК-Р), аденомиоз (АМК-А), лейомиома (АМК-L) и гиперплазия эндометрия либо злокачественные/предраковые состояния (АМК-М). Группа СОЕIN представляет собой патологические состояния вследствие причин, обусловленных неструктурными изменениями матки, то есть те, которые нельзя оценить с помощью визуализации или патоморфологического исследования, такие как коагулопатия (АМК-С), овуляторная дисфункция (АМК-О), дисфункция эндометрия (АМК-Е), ятрогенные причины (АМК-I) и не относящихся ни к одной из категорий (АМК-N) [89, 202].

Отсутствие идентифицируемой гистологической или структурной причины АМК (АМК-Р, АМК-А, АМК-L, АМК-М) в условиях регулярного менструального цикла и при исключении ятрогенных факторов (АМК-I) и коагулопатий (АМК-С), определяют как первичное заболевание/дисфункциональное состояние эндометрия (АМК-Е). Последнее является диагнозом исключения, и в настоящее время не существует специального теста для диагностики данного состояния. Отсутствие явной патогенетической основы подчеркивает остроту необходимости поиска биомаркеров, характерных для данной причины маточного кровотечения [60]. Патогенез АМК, обусловленных патологическими функциональными состояниями эндометрия, до настоящего время изучен недостаточно, однако имеются определенные указания на роль чрезмерного воспаления, замедления регенерации эндометрия и/или нарушения вазоконстрикции спиральных артериол эндометрия [140].

В основе патогенеза АМК-Е лежат локальные нарушения функциональной активности эндометрия, которые обусловлены несвоевременным восстановлением поврежденной сосудистой сети ткани эндометрия, персистенцией воспалительной реакции, нарушением нормального ангиогенеза и дисбалансом процессов

восстановления и регенерации слизистой оболочки матки [164]. В эндометрии пациентки с АМК-Е, вероятно, наблюдается нарушение регуляции вышеупомянутых механизмов гомеостатического контроля, в результате чего события, требующие координации всех процессов, больше не происходят синхронно, а менструальная кровопотеря возрастает. Нельзя исключить возможность, что все описанные изменения в эндометрии также могут проявляться при АМК, вызванных «структурными» причинами, входящими в категорию PALM. К сожалению, имеющиеся в настоящее время данные об эндометрии у больных с лейомиомами не позволяют адекватно определить влияние локализации лейомиомы (подслизистой или других) на функционально измененный эндометрий [77, 86, 208].

По сути, эти нарушения эндометриального гемостаза отражают первичную дисфункцию механизмов локальной остановки менструального кровотечения, которая, по-видимому, включает в себя комбинацию нарушений процессов вазоконстрикции, ангиогенеза, изменений в формировании или поддержании формирования внутрисосудистых тромбов и нарушения процессов ремоделирования эндометрия [140, 210]. Несмотря на то, что изучение этих молекулярных механизмов у женщин с АМК-Е продолжается почти полвека, к настоящему времени еще не разработаны достаточно специфические диагностические тесты, доступные клиницистам, для целенаправленной постановки данного диагноза. Это обстоятельство может способствовать значительной гиподиагностике, отсутствию должного эффекта от терапии АМК-Е и снижению эффективности профилактики рецидивов у женщин группы риска.

Недостаточная вазоконстрикция, обусловленная аномальным синтезом вазоактивных факторов, представляет собой одну из причин задержки восстановления эндометрия и остановки маточного кровотечения. К числу этих факторов относят уменьшение экспрессии рецептора простагландина F, выраженное снижение отношения  $PGF\ 2\alpha / PGE\ 2$  за счет повышения выработки  $PGE\ 2$ , снижение уровня эндотелина-1 (ET-1) и увеличение уровня нейронной эндопептидазы, ответственной за метаболизм ET-1 [102, 140]. Отмечают также, что

у женщин с ОМК значительно снижена пролиферация миоцитов гладкой мускулатуры спиральных артериол в средней и поздней секреторных фазах, что в равной мере приводит как к снижению тонуса этих сосудов, так и к вазоконстрикции [60]. Кроме того, показано, что в эндометрии пациенток с ОМК нарушен синтез таких регуляторов сосудистого тонуса, как смутелин и кальпонин [34].

Ключевыми элементами процесса регенерации эндометрия во время менструального кровотечения служат ангиогенез и созревание спиральных артериол. Ангиогенез определяют как образование новых кровеносных сосудов из ранее существовавших, он запускается потребностью в кислороде для роста ткани при пролиферации эндометрия [179]. Дисбаланс между про- и антиангиогенными факторами в ткани эндометрия способствует ее аномальной васкуляризации и формированию феномена патологического неоангиогенеза, что способствует развитию АМК-Е и АМК-И [36].

В контексте нарушений ангиогенеза при АМК следует понимать, что изменения могут возникнуть в регуляции экспрессии факторов роста сосудов, прежде всего VEGF, а также в морфофункциональной динамике сосудистой структуры эндометрия, включая спиральные артериолы. Экспрессия VEGF, ключевого регулятора сосудистой функции, во время менструации АМК-Е существенно возрастает за счет гипоксии. Увеличение диаметра спиральных артериол у женщин с ОМК некоторые авторы объясняют изменениями в созревании сосудистой стенки, как следствием повышения экспрессии VEGF-A и рецепторов VEGF-1 и 2 [210]. Напротив, Maubin et al. (2018) обнаружили снижение экспрессии HIF-1 $\alpha$  и VEGF во время менструации у пациенток с АМК-Е по сравнению с контрольной группой, что может свидетельствовать в пользу задержки восстановления эндометрия во время менструации у пациенток с АМК-Е. Однако статистически значимых различий в уровнях VEGF как в пролиферативной, так и в секреторной фазе у пациенток данной когорты в упомянутом исследовании выявлено не было [103]. Наряду с этим установлено, что VEGF регулирует активность eNOS, что способствует усиленному синтезу NO и

опосредует выраженное проангиогенное воздействие. Этот процесс, в свою очередь, приводит к расширению сосудов, повышению проницаемости эндотелиальных клеток и поддержанию активности ангиогенеза [36]. Последующая регуляция eNOS с помощью VEGF была изучена в одном исследовании, где авторы показали у пациенток с АМК-Е повышение eNOS в обеих фазах [73].

Не менее значима роль клеток-киллеров матки (uNK), которую они играют в процессе созревания спиральных артериол, что в свою очередь, влияет на степень их сужения и объем кровопотери во время менструального кровотечения [91]. Было обнаружено нарушение контроля за регуляцией uNK в сторону увеличения их количества в эндометрии при ОМК, что может оказывать негативное воздействие на процессы развития и созревания сосудистой стенки в эндометрии [135].

Согласно современным представлениям TGF $\beta$ 1 не менее значим для восстановления сосудистой сети. Участвуя в изменении фенотипа клеток гладкой мускулатуры сосудов на сократительный, TGF $\beta$ 1 способствует ограничению кровопотери и восстановлению эндометрия. По данным исследования Lu Q. et al. (2021), у пациенток с ОМК имеет место снижение биодоступности и передачи сигналов TGF $\beta$ 1 в эндометрии [207]. Однако Maubin et al. (2017) не обнаружили различий в экспрессии этого фактора у пациенток с ОМК по сравнению с контрольной группой, хотя в данном исследовании был отмечен факт снижения его экспрессии у пациенток с АМК-Е [175].

Адекватное созревание эндотелиальных клеток и компонентов внеклеточного матрикса определяют правильный ангиогенез. У женщин с ОМК по сравнению с женщинами, у которых менструации сопровождаются нормальной кровопотерей, выявлены изменения в уровнях белков-маркеров эндотелиальных клеток и компонентов внеклеточного матрикса сосудов эндометрия, как в пространственном, так и во временном аспектах. Эти изменения могут свидетельствовать о нарушении нормальной структуры сосудистой стенки и, следовательно, могут влиять на функциональную активность сосудов эндометрия [81]. Исследование, проведенное Harmsen M.J. et al. (2019), выявило увеличение

экспрессии проангиогенных факторов, включая CD34+, в эндометрии у женщин с аденомиозом. Авторы сделали вывод о том, что усиление ангиогенеза может способствовать повышению хрупкости и проницаемости сосудов, что, в свою очередь, может вызвать АМК [179].

Снижение сократительной функции сосудов не только влияет на менструальный кровоток, но также может привести к увеличению продолжительности кровотечения из-за задержки восстановительных процессов в эндометрии [92].

В последнем систематическом обзоре в контексте нескольких типов АМК подробно рассматривается aberrantный ангиогенез как важный аспект, представляющий интерес для потенциальной антиангиогенной терапии у женщин с этим заболеванием. В этом обзоре отмечают, что aberrantный ангиогенез в эндометрии и ятрогенные АМК (АМК-Е и АМК-І соответственно) связаны с нарушением созревания сосудов. Это, в свою очередь, повышает хрупкость сосудов и изменяет их плотность [36]. В другом систематическом обзоре анализировали ангиогенез при бесплодии и АМК-А, и также отмечали схожие результаты [179]. Авторы одного обзора, посвященного влиянию миомы на эндометрий человека, подчеркивали, что нарушение ангиогенеза служит одним из ключевых факторов, объясняющих развитие АМК в аномальной эндометрии [161].

Новые данные в своем исследовании продемонстрировали Мао С. et al. (2023), которые подчеркнули важность гликолиза, а также процессов воспаления для оптимального восстановления эндометрия. Подавление гликолиза значительно ингибировало пролиферативную и миграционную способность клеток эндометрия и нарушало нормальное восстановление эндометрия даже при сохранении гипоксии [129].

Удивителен тот факт, что растет доля случаев рецидивов АМК при нормальной структуре эндометрия, даже после гистероскопического вмешательства, в сравнении со структурными изменениями матки [174].

Проблема АМК, связанных с дисфункцией эндометрия, заключается в том, что на сегодняшний день отсутствуют биомаркеры, которые можно использовать в

повседневной практике с целью прогнозирования, профилактики и выбора лечения пациенток с АМК этой категории. Исследования, направленные на их поиск, позволят провести соответствующее фенотипирование женщине в соответствии с принципами персонализированной точной медицины, что будет способствовать более специфическому подходу к лечению. В свою очередь, это может улучшить качество жизни женщин и/или позволит избежать инвазивного хирургического лечения. Более глубокое понимание основного механизма формирования изменений, определяющих симптомы АМК, например, при АМК-Е, может дать возможность лучше ориентироваться на местную гормональную среду эндометрия и уменьшить нецелевое действие и побочные эффекты препаратов, назначаемых для лечения АМК.

Таким образом, АМК, обусловленные дисфункцией эндометрия, представляют собой сложный и недостаточно изученный раздел современной гинекологии, как плановой, так и ургентной. В основе патогенеза АМК-Е лежат локальные нарушения функциональной активности эндометрия, включающие дисбаланс вазоактивных факторов, aberrантный ангиогенез, нарушение созревания сосудистой стенки и процессов регенерации слизистой оболочки матки. Эти изменения приводят к несвоевременному восстановлению поврежденной сосудистой сети, повышению хрупкости и проницаемости сосудов, что в итоге проявляется увеличением объема менструальной кровопотери. Несмотря на интенсивные исследования молекулярных механизмов АМК-Е, до настоящего времени отсутствуют надежные биомаркеры для их диагностики, что затрудняет персонализированный подход к ведению пациенток. В этой связи актуальной задачей представляется дальнейший поиск специфических маркеров риска АМК-Е, позволяющих прогнозировать развитие и течение заболевания, а также оптимизировать терапевтическую тактику с учетом индивидуальных особенностей патогенеза. Это, в свою очередь, будет способствовать повышению эффективности лечения, улучшению качества жизни женщин и снижению потребности в инвазивных хирургических вмешательствах, а также затрат на них.

## 1.4 Ожирение как хроническое воспаление и его роль в патогенезе АМК

В текущем состоянии рост распространенности ожирения превратился в глобальную проблему здравоохранения, бросающую тень на множество аспектов благополучия человека [116]. За последние 30 лет имеет место неуклонное увеличение численности пациенток с нарушением жирового обмена, и этот показатель в масштабах планеты достигает 39% [148]. Предполагается, что сохранение такой тенденции может обернуться тем, что в 2025 году доля пациентов с ожирением достигнет 18% среди мужчин и 21% среди женщин [218], а к 2030 году до 60% жителей земного шара будут иметь избыточный вес и ожирение [94].

В России распространенность ожирения составляет 27,5% среди мужчин и 31,4% среди женщин [11, 162]. В 2020 году ожирение диагностировали у 17,7% всего населения страны, в 2021-м — у 19,6%, а в 2022-м — у 20,6%. Вместе с тем, прирост численности больных с ожирением в России с 2009 года составил около 36% [11, 18, 20].

Стандартное определение понятия ожирения было дано ВОЗ еще в 2000 году. Оно звучит как «хроническое заболевание, характеризующееся патологическим накоплением жировой ткани в организме и представляющее риск для здоровья» [215]. Однако статус эпидемии заболевание приобрело именно в XXI веке [53, 61], и в настоящее время оно представляет собой значительное бремя для систем здравоохранения государств. Как увеличение веса с юности до зрелого возраста, так и стабильное ожирение во взрослом возрасте значимо связаны с повышенным риском смертности [214]. Оно выступает в качестве катализатора разнообразных сопутствующих заболеваний и осложнений, негативно влияющих на качество и продолжительность жизни. Среди последних заслуживают внимания СД 2 типа, ССЗ, различные виды рака, а также новая коронавирусная инфекция (COVID-19) [38, 49, 62, 72, 151, 154].

Высокий ИМТ ассоциирован с ранним менархе и такими гинекологическими заболеваниями, как нерегулярные менструации, бесплодие, СПЯ, АМК и РЭ [15, 26, 33, 39, 48, 49, 110, 133, 165, 173]. Это подчеркивает не только масштаб

проблемы, но и необходимость в комплексных мерах, направленных на предотвращение заболевания и/или лечение ожирения для улучшения общественного здоровья и благополучия населения.

Диагностика и определение степени ожирения основаны на подсчете ИМТ, который определяют, как отношение массы тела в килограммах к квадрату роста в метрах. Нормальная масса тела лежит в диапазоне 18,5-24,9 кг/м<sup>2</sup>, избыток массы тела ограничен 25-29,9 кг/м<sup>2</sup>. Диагноз ожирения ставится при ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>. При ИМТ  $\geq 35$  кг/м<sup>2</sup> и наличии серьезных осложнений, связанных с ожирением, или при ИМТ  $\geq 40$  кг/м<sup>2</sup> вне зависимости от осложнений, выносится диагноз морбидного ожирения [11, 215].

Определяемое в первую очередь чрезмерным накоплением жировой ткани, ожирение перестало быть просто отражением выбранного образа жизни и превратилось в многогранную хроническую болезнь, имеющую серьезные последствия для физиологических и метаболических функций всего организма [55, 124]. Из-за многообразия патофизиологических механизмов, лежащих в основе развития ожирения, мало рассматривать это состояние как просто следствие энергетического дисбаланса, т.е., несоответствие между потреблением и расходом калорий. У пациентов с избыточной массой тела и ожирением формируются различные прогрессирующие метаболические нарушения, включая окислительный стресс, дисфункцию митохондрий, нарушения в иммунной системе и хроническое низкоуровневое воспаление [134].

Белая жировая ткань выполняет две основные функции: служит основным резервуаром для хранения жира и является активным эндокринным органом, вырабатывающим адипокины и цитокины. Адипокины, выделяемые клетками жировой ткани, могут быть специфичными для нее (например, лептин, адипонектин, резистин, висфатин и оментин) или неспецифичными [например, IL-6, интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), TNF- $\alpha$ , ретинол-связывающий белок-4 (RBP-4), липокалин-2 (LCN-2), хемерин] [19]. Регуляция процессов воспаления в жировой ткани происходит за счет цитокинов. Повышение накопления липидов приводит к гипертрофии адипоцитов. Резкое увеличение размеров последних в жировой ткани

может сопровождаться недостаточным формированием необходимой сосудистой сети, что, в конечном итоге, приводит к хронической гипоксии в жировой ткани, ее дисфункции и апоптозу [196]. Дисфункция жировой ткани способствует aberrantному синтезу адипокинов и созданию микроокружения, в котором адипоциты начинают секретировать провоспалительные цитокины, включая TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 и моноцитарный хемотаксический протеин-1 (MCP-1) [191]. Это сопровождается усилением инфильтрации жировой ткани циркулирующими моноцитами и другими иммунными клетками. При отсутствии нарушения жирового обмена в жировой ткани преобладают противовоспалительные M2-макрофаги, Th2-клетки, Tregs, iNKT-клетки и эозинофилы с равномерным распределением. У пациентов же с ожирением имеет место повышенный приток моноцитов, провоспалительных M1-макрофагов, Th1-клеток, Th17-клеток, нейтрофилов и В-клеток, которые группируются вокруг апоптотических адипоцитов в "коронеподобных структурах" [209].

Хроническое латентное воспаление при ожирении характеризуется продолжительностью и низкой степенью выраженности, за счет чего получило название «метавоспаление» [143]. Адипоциты в состоянии дисфункции, секретировав в большом количестве провоспалительные цитокины, как локально, так и системно нарушают нормальную работу метаболических программ как самой жировой ткани, так и соседних органов [35].

Чрезмерное накопление макрофагов в висцеральной жировой ткани (ВЖТ) [122] и максимальный уровень гипертрофии адипоцитов в этой области [160] приводят к значительно более выраженному воспалению по сравнению с подкожным жиром. Анатомическое расположение и особенности строения позволяют ВЖТ напрямую доставлять продукты воспаления в другие органы, что приводит к формированию главных метаболических осложнений, связанных с ожирением, таких как инсулинорезистентность и СД2 [190]. Несколькими авторами отмечено влияние воспалительных реакций подкожной жировой ткани на функциональную активность органов и развитие связанных с этим осложнений [127, 189].

Несмотря на то, что ряд исследователей считают инициаторами воспаления в жировой ткани нейтрофилы [100, 209], каскад воспалительных реакций в ВЖТ регулируется главным образом макрофагами [69, 201], которые вовлекают в этот процесс другие иммунные клетки и секретируют TNF- $\alpha$ , IL-6, интерлейкин-12 (IL-12), IL-1 $\beta$  и другие факторы, способствуя поддержанию и прогрессированию состояния воспаления в жировой ткани [204].

В поддержании низкоуровневого воспаления также участвуют адипокины, которые обладают про- и противовоспалительными свойствами. Так, лептин усиливает синтез провоспалительных факторов. Его уровень у пациенток с ожирением значимо выше [154]. В то же время адипонектин, обладающий противовоспалительными свойствами, у лиц с избыточным весом напротив, имеет тенденцию к снижению [65].

Таким образом, существующие взаимодействия между дисфункцией адипоцитов и иммунной системой, создают порочный круг, поддерживающий в организме человека с ожирением состояние системного низкоуровневого воспаления и обеспечивающий циркуляцию в системном кровотоке провоспалительных цитокинов, что неизбежно способствует инициации воспалительных процессов в различных тканях, включая органы малого таза [20, 90, 187, 194].

До конца не изучен вопрос влияния факторов ожирения либо избыточной массы тела на АМК и ОМК. Недавнее исследование Amgain K. et al. (2022) выявило взаимосвязь между антропометрическими данными и нарушениями менструального цикла у женщин репродуктивного возраста. Участницы исследования с повышенным ИМТ и увеличением соотношения талии к бедрам чаще сталкивались с нарушением менструального цикла [46]. Связь между ОМК и ожирением подтвердили и Sen L.C. et al. (2018), которые обнаружили, что тяжелые ОМК, приводящие к клинической анемии с низким уровнем гемоглобина, более распространены среди женщин с ожирением, нежели у лиц с нормальным ИМТ [188]. В работе Sabre A. et al. (2021) было продемонстрировано, что средний ИМТ

значимо выше у женщин с АМК-Е (34,2 кг/м<sup>2</sup>,  $p=0,048$ ) и АМК-О (32,6 кг/м<sup>2</sup>,  $p=0,038$ ) по сравнению с пациентками с АМК-Л (30 кг/м<sup>2</sup>) [31].

Высокий ИМТ, безусловно, влияет на функцию эндометрия в контексте риска ГЭ и карциномы эндометрия, а также овуляторной дисфункции, приводящей к АМК-О [167]. Жировая ткань, в избытке присутствующая у людей с ожирением, играет важную роль в метаболизме стероидов, обеспечивая повышение уровня эстрогенов. Этот феномен в значительной степени обусловлен активностью ароматазы в жировых тканях, которая преобразует андрогены в эстрогены [154].

Процесс конверсии андрогенов в эстрогены под воздействием ароматазы в жировой ткани следует выделить как одну из важных причин деления жировых клеток. В этом процессе, например, происходит превращение андростендиона в эстрон. У пациенток с ожирением такая конверсия в 10 раз выше, чем у женщин с нормальной массой тела. Гиперэстрогемия, вызванная преимущественно эстроном из-за отсутствия влияния прогестерона при его абсолютном дефиците, способствует повышению риска развития ГЭ. Вместе с тем, гиперинсулинемия, характерная для пациенток с ожирением, снижает синтез ГСПГ, что, в свою очередь, увеличивает биодоступность инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1) и способствует повышению уровня эстрогенов, активизируя пролиферацию эндометрия [111, 220]. Эти последствия представляют серьезную угрозу для женщин с ожирением, поскольку приводят к неуправляемому внегонадному синтезу эстрогенов и значительно повышают риск развития РЭ, особенно в постменопаузе.

Недостаточно сведений о том, как ожирение может влиять на развитие дисфункции эндометрия и, следовательно, на манифестацию АМК-Е. Как упоминалось ранее, ожирение представляет собой состояние персистирующего хронического воспаления, которое может оказывать системное воздействие на клетки различных органов и тканей. Путем инфильтрации провоспалительных цитокинов, макрофагов и других элементов иммунной системы, формируется характерный провоспалительный профиль, который дефинируют как латентное низкоуровневое воспаление. Усиление интенсивности воспалительного процесса и

повышение поступления провоспалительных цитокинов в ткань эндометрия способствуют дисбалансу основных процессов, необходимых для ее регенерации вследствие физиологического повреждения в период менструации, что приводит к АМК и ОМК. Результаты экспериментального исследования показали увеличение уровня местных медиаторов воспаления в ткани эндометрия у мышей, подвергнутых диете с высоким содержанием жиров [158]. Подобная экспрессия провоспалительных факторов в эндометрии была отмечена и у женщин с ожирением и эндометриозом в исследовании Holdsworth-Carson S.J. et al. (2020). Однако статистически значимых различий в экспрессии медиаторов воспаления в сравнении с нормовесными с эндометриозом зарегистрировано не было [157]. Недостаточная значимость различий может быть связана с ограничением количества образцов и естественной гетерогенностью тканей человека, обусловленной возрастом, акушерским анамнезом и гормональным уровнем.

Первыми, кто обратил внимание, что у женщин с высоким ИМТ АМК, связанные с дисфункцией эндометрия, встречались чаще по сравнению с нормовесными, были Nouri M. et al. (2014) [149]. Последующие доклинические исследования рассматривали нарушения гипоксической реакции в ткани эндометрия как один из путей патогенеза дисфункции эндометрия на фоне избыточной массы тела. Было обнаружено, что у мышей с нормальной массой тела гипоксическая реакция в эндометрии наступала уже через 8 часов после отмены прогестерона, в то время как у мышей на диете с высоким содержанием жиров она возникала только через сутки, это сопровождалось снижением пролиферативной активности эндометрия и увеличением в ткани концентрации провоспалительных цитокинов [103, 108]. Также влияние избыточной массы тела на гипоксическое состояние эндометрия было отмечено у женщин в перименструальную фазу в исследовании Reavey J. J. et al. (2021), где экспрессия в эндометрии регулируемых гипоксией генов (*VEGF*, *ADM*, *LDHA*, *SLC2A1*) у женщин с ожирением была выше, чем у нормовесных. Однако статистическая значимость также не была достигнута, что подчеркивает необходимость дальнейших исследований с увеличением объема выборки [158].

Таким образом, ожирение представляет собой серьезную нерешенную глобальную проблему здравоохранения, оказывающую многогранное негативное влияние на различные аспекты здоровья человека, острота которой неуклонно растет. Избыточное накопление периферической жировой ткани приводит к формированию феномена хронического низкоуровневого воспаления, характеризующегося инфильтрацией тканей провоспалительными иммунными клетками и повышением локальной секреции цитокинов. Эти факторы оказывают системное воздействие на различные органы и ткани, включая эндометрий. Имеющиеся сведения указывают на более высокую распространенность АМК, в частности АМК-Е и АМК-О, у пациенток с ожирением по сравнению с женщинами, имеющими нормальный вес. Предполагается, что усиление интенсивности воспалительного процесса непосредственно в эндометрии и приток извне провоспалительных цитокинов могут вызывать дисбаланс ключевых механизмов, необходимых для адекватной регенерации эндометрия, что, в конечном итоге, приводит к клинической манифестации АМК. Вместе с тем, ожирение высоко ассоциировано с гиперэстрогемией и гиперинсулинемией, которые сами по себе способствуют пролиферации эндометрия, повышая риск ГЭ и РЭ. Однако точные молекулярные механизмы, лежащие в основе влияния ожирения на дисфункцию эндометрия и патогенез АМК, все еще изучены недостаточно и требуют дальнейших исследований на больших выборках пациенток. Понимание этих механизмов важно для разработки новых стратегий профилактики и лечения АМК в когортах женщин с избыточным весом и ожирением.

### **1.5 Генетические аспекты АМК и ожирения**

АМК представляет собой комплексное заболевание, в развитии которого значительную роль могут играть генетические факторы. Одними из таких факторов являются одиночные нуклеотидные полиморфизмы (SNP) генов. Последние участвуют в регулировании функциональной активности и выработки основного продукта, за производство которого отвечает данный ген. В последнее время

активно изучаются генетические изменения в рамках структурных нарушений в матке, приводящих к АМК. Так отмечено, что мутации в гене *MED12* были связаны с развитием миомы матки [177]. Кроме того, гены играют ключевую роль в гормональной регуляции. Вариации в генах, контролирующих уровни эстрогена и прогестерона, могут влиять на менструальный цикл и способствовать возникновению АМК [67]. Также, есть данные, что эстрогены являются важными регуляторами функции эндотелия. Эстрогены действуют через  $\alpha$ - или  $\beta$ -рецепторы, которые кодируются соответствующими генами рецепторов эстрогена *ESR1* и *ESR2*. Данные исследований по изучению полиморфизма гена *ESR* продемонстрировали его роль в генезе различных патологических состояний и хронических заболеваний. Имеются сообщения о его значении как фактора риска в формировании злокачественных новообразований (рак молочной железы, РЭ), а также увеличения риска развития предменструального синдрома [40, 197] и тяжелой преэклампсии [45]. Относительно менструальной функции в исследовании Мелкозеровой О.А. и соавт. (2019) было отмечено, что носительство полиморфизма *pVull-CC* гена *ESR1 397T>C* связано с повышением риска нарушений становления менструальной функции, что проявляется АМК в пубертатном периоде [17].

Ангиогенез признан ключевым процессом в остановке менструального кровотечения и регенерации ткани эндометрия. Изменение экспрессии про- и антиангиогенных факторов в эндометрии может привести к нарушению ангиогенеза, что способствует возникновению АМК-Е [36]. VEGF-A определяют как важнейший ангиогенный фактор роста, играющий значительную роль не только в регуляции ангиогенеза, но и в посредничестве роста и дифференцировки клеток, индуцируемых половыми стероидами. VEGF-A увеличивает проницаемость сосудов и является основным хемотаксическим и митогенным стимулом для эндотелиоцитов. Полиморфизм *C2578A* по *VEGF-A* был связан с измененными уровнями экспрессии VEGF-A и изучен при различных заболеваниях. Например, Del Cuore A. et al. (2023) продемонстрировали в своем исследовании, что аллель *A* гена *VEGF-A, rs699947* может быть связан со

снижением риска развития синдрома диабетической стопы у пациентов с сахарным диабетом [141]. Кроме того, этот SNP был вовлечен в увеличения риска сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с избыточной массой тела, у которых было обнаружено, что генотип *CC* способствует положительной взаимозависимости между уровнем лептина и VEGF-A в сыворотке крови [51].

Также отмечена ассоциация данного полиморфизма с таким состоянием, как преэклампсия [168, 172]. В исследовании Trifonova E.A. et al. (2019) было отмечено, что аллель *T* и генотипы *CT* и *TT* полиморфизма *C936T* гена *VEGF*, а также генотипы *CC* и *GC* полиморфизма *G634C* гена *VEGF* ассоциированы с развитием повторных неразвивающихся беременностей в российской популяции [195]. Kaygusuz I. et al. (2022) в своей работе продемонстрировали высокий риск формирования АМК-Е при носительстве полиморфных вариантов *VEGF - 2578C > A* и *- 1154G > A* [117].

Изменения в гене, кодирующем эндотелиальную NO-синтазу, могут быть потенциальными факторами предрасположенности к АМК, учитывая важную роль NO-синтазы, оксида азота и фермента eNOS в ангиогенезе, регуляции сосудистого тонуса и реализации антитромботических эффектов в эндометрии. SNP *NOS3 786T > C* представляет собой генетическое изменение в гене, кодирующем eNOS. Полиморфизм *NOS3 786T > C* может влиять на уровень функциональной активности eNOS и, следовательно, на производство NO, важного для сосудистой функции. Снижение продукции NO, в свою очередь, может способствовать формированию эндотелиальной дисфункции, что связано с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями, например, гипертонической болезнью, ишемической болезнью сердца, инсультами [59, 125]. Также есть данные о его связи с метаболическим синдромом и СД 2 типа и его осложнениями [83, 199]. У женщин с АМК и ожирением, частота носительства аллеля *C* гена *NOS3 786T > C* может быть выше, что свидетельствует о его возможном влиянии на развитие эндотелиальной дисфункции и формирование неоангиогенеза в эндометрии. Эти изменения могут быть связаны с ухудшением регенеративных способностей эндометрия и увеличением риска хронического воспаления и гипоксии тканей. В

работе Мелкозеровой О.А. и соавт. (2016) была доказана роль полиморфизма гена *eNOS* в развитии эндотелиальной дисфункции у девочек с АМК. Так встречаемость аллеля *C* гена *NOS3 786T > C* оказалась значимо выше у девочек, страдающих АМК, которые родились с синдромом задержки роста плода [16].

Феномен гипоксии в эндометрии является не менее значимым процессом в регуляции и остановки менструального кровотечения. HIF-зависимая экспрессия VEGF-A и других ангиогенных факторов приводит к образованию новых кровеносных сосудов для увеличения перфузии ишемизированной ткани. *HIF-1α* (*C1772T, rs11549465*) – это SNP в гене *HIF-1α*. Считается, что аллель *T* способствует повышению активности HIF-1α, что может привести к усилению экспрессии чувствительных к гипоксии генов, важных для ангиогенеза, метаболизма и выживания клеток, что может способствовать росту опухоли и метастазированию [42]. В то же время Zafar U. et al. (2021) в своей работе отметили взаимосвязь аллеля *C* по *HIF-1α* (*C1772T, rs11549465*) с повышенным риском развития метаболического синдрома [43].

Воспалительный процесс также участвует в программе восстановления слизистой оболочки матки, а роль чрезмерного воспаления в реализации АМК-Е достаточно четко определена. Известно, что жировая ткань у женщин с избыточной массой тела и ожирением является источником провоспалительных цитокинов, включая IL-6 - основной медиатор хронических воспалительных реакций, уровень которого выше в эндометрии женщин с АМК. Анализируя данные литературы, можно сказать, что есть вероятность возможного влияния генетической составляющей на эти процессы. Так, в исследовании Кос G. et al. (2023) полиморфизмы *rs1800795 (G/C)* и *rs1800796 (G/C)* гена *IL-6*, по-видимому, являлись фактором риска развития ожирения, а аллель *C* был связан с фенотипами ожирения [159]. Эти данные также были отмечены и подтверждены в систематическом обзоре, который продемонстрировал, что носительство генотипа *CC* по *IL6 (rs1800795)* было ассоциировано с высоким риском ожирения и избыточной массы тела [47]. В настоящее время нет достоверных данных о роли полиморфизма *IL6 (rs1800795)* в формировании АМК, однако Wang X.Q. et al.

(2020) отметили положительную корреляцию носительства полиморфного варианта *GG* по *IL6* (*rs1800795*) с повышением риска развития эндометриоза [75].

Понимание генетических аспектов АМК у женщин с ожирением имеет важное значение для разработки персонализированных подходов в медицине и таргетной терапии для данной когорты пациенток. Результаты проведенных исследований, включая данные диссертационной работы, а также дальнейшее планомерное изучение генетических основ АМК, несомненно внесут свой вклад в усовершенствование диагностических и терапевтических стратегий в будущем.

### **1.6 Роль маркеров ангиогенеза в развитии АМК на фоне дисфункции эндометрия**

Восстановление слизистой полости матки после отторжения эндометрия происходит в каждом менструальном цикле. Целью этого процесса является минимизация кровопотери и сохранение функции ткани. Снижение влияния овариального прогестерона в конце секреторной фазы с последующим сужением сосудов спиральных артериол сопровождаются формированием феномена физиологической транзиторной гипоксии [104]. Гипоксию эндометрия давно рассматривают в качестве важного регулятора восстановления эндометрия. Интенсивное сужение сосудов спиральных артериол во время менструации непосредственно наблюдалось у эксплантатов эндометрия, пересаженных в переднюю камеру глаза макак-резусов Markee в 1940 году [130]. Это склоняет чашу весов в сторону гипотезы о том, что гипоксия необходима для начала менструации.

Очередное подтверждение наличия «менструальной гипоксии» было получено и в «экзогенной гормональной модели симулированных менструаций» в доклинических исследованиях [102, 106, 108] и в эндометрии человека [158] во время менструации. При применении пимонидазола гипоксия была обнаружена во время кровотечения и позже была ограничена участками, подвергающимися активному восстановлению. После этих публикаций решающая роль гипоксии в эндометрии данное время оставалась предметом интенсивных дискуссий. Мнения

в этой области были противоречивы, обсуждалось множество моделей *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo* в естественных условиях.

Одним из доминирующих мнений является то, что вариантом способа физиологической остановки маточного кровотечения является адекватная вазоконстрикция спиральных артериол [213]. Поскольку радиус кровеносного сосуда представляется основным параметром, определяющим сопротивление кровотоку, логично, что даже небольшое его увеличение окажет значительное влияние на кровоток. Например, увеличение радиуса сосуда вдвое приводит к уменьшению сопротивления кровотоку в 16 раз. Вазоконстрикция артериол достигается за счет таких ключевых факторов, как PGF 2 $\alpha$  и ET1, которые в норме предупреждают чрезмерную менструальную кровопотерю [92]. Сужение сосудов, со своей стороны, способствует формированию в ткани эндометрия гипоксии, играющей свою роль в уменьшении маточного кровотечения [92]. VEGF и ангиогенные факторы в менструальной жидкости [138], вероятно, стимулируют восстановление спиральных артериол, поврежденных во время менструации.

Конечными механизмами контроля продолжительности менструальных кровотечений является сопутствующий процесс восстановления эндометрия. Регенерация ткани эндометрия начинается почти сразу же после начала его отделения. Этот процесс протекает без рубцевания и обычно прекращается к завершению менструации. Регенерация функционального слоя эндометрия, вероятно, происходит сразу после завершения процесса его восстановления [182].

Существуют три основные теории относительно механизмов восстановления ткани эндометрия. Согласно теории пролиферации и дифференцировки клеток, после удаления верхнего слоя эндометрия в результате менструации, клетки, оставшиеся в базальном слое, начинают активно пролиферировать, чтобы восстановить поврежденную ткань. Эти пролиферирующие клетки потом дифференцируются в различные типы клеток, включая железистые эпителиальные клетки и клетки стромы [204]. Теория регенерации из стволовых клеток постулирует, что восстановление эндометрия происходит за счет активации стволовых клеток, находящихся в базальном слое эндометрия. Эти стволовые

клетки могут дифференцироваться в различные типы клеток, необходимые для восстановления эндометрия после менструации [76]. Теория эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) предполагает, что восстановление эндометрия происходит за счет ЭМП, при котором стромальные клетки эндометрия могут быть перепрограммированы во время менструации в эпителиальные клетки. Этот процесс позволяет эндометрию адекватно восстанавливаться после каждого цикла менструации [200]. Однако Ghosh A. et al. (2020) в своем исследовании не обнаружили окончательных доказательств ЭМП в регенерации эндометрия на примере взрослой особи мыши [109].

В то же время следует признать, что регуляция регенеративных механизмов эндометрия до конца не изучена [102]. Интересно, что иммунные клетки, особенно нейтрофилы и макрофаги [103], рассматриваются как важные клеточные компоненты, участвующие в менструации и восстановлении эндометрия [120].

Еще одним необходимым условием для обеспечения кровоснабжения растущей ткани является адекватный ангиогенез. После менструации сосудистая ткань и эндометрий подвергаются значительной пролиферации под влиянием повышения уровня эстрадиола [164]. Индуцированная во время менструальной фазы гипоксия и эстрадиол во время фазы пролиферации стимулируют ангиогенез, активируя стромальные клетки эндометрия человека. Последние продуцируют VEGF и одновременно стимулируют эндотелиальные клетки (ЭК) экспрессировать ангиопоэтин-2 (Ang-2) [36].

Однако, поскольку менструация происходит одновременно с восстановлением поврежденной поверхности слизистой оболочки (эндометрия), трудно понять индивидуальный вклад этих клеток в процесс восстановления эндометрия по сравнению с менструацией. Недавно проведенный анализ секвенирования отдельных клеток ткани эндометрия человека, вероятно, дополнит эти результаты путем выявления субпопуляций иммунных клеток, хотя наборы данных изучены еще недостаточно глубоко [186]. Наконец, как подробно говорилось ранее, гипоксия имеет решающее значение для всех процессов, участвующих в восстановлении эндометрия.

Многообещающим методом оценки феномена тканевой гипоксии является определение экспрессии HIF-1. Последний, являясь основным транскрипционным регулятором метаболической адаптации к изменениям кислородной среды, участвует во многих физиологических и патологических процессах в организме и тесно связан с патогенезом многих заболеваний [105, 163, 183, 184]. Ключевым элементом клеточного ответа на гипоксию является стабилизация альфа-субъединиц HIF-1 $\alpha$ , и последующая активация гетеродимеров HIF, которые активируют транскрипцию многих генов, необходимых для адаптации в условиях низкого содержания кислорода [101], включая гены, важные для ангиогенеза, энергетического контроля метаболизма и ремоделирования тканей, а также участия в воспалительных реакциях [206]. Входящая в состав HIF-1 $\alpha$   $\alpha$ -субъединица в условиях оксигенации гидроксилируется ферментом пролилгидроксилазой, что приводит к дезактивации HIF-1 $\alpha$ . Стабилизация HIF-1 $\alpha$  происходит в условиях гипоксии, когда кислородзависимые ферменты неактивны. Присутствие HIF-1 $\alpha$  было зафиксировано в эндометрии женщин в перименструальную фазу [131].

В исследовании Maubin J.A. et al. (2018) было показано, что у женщин с объективно подтвержденным диагнозом ОМК (> 80 мл за цикл) во время менструации наблюдалось снижение уровня белка HIF-1 $\alpha$  в эндометрии и его нижестоящих мишеней [VEGF и рецептор хемокинов 4 (CXCR4)] по сравнению с женщинами с нормальной менструальной кровопотерей, что демонстрирует существующий дефект гипоксического ответа. В этой же работе на мышинной «модели симулированных менструаций» была определена физиологическая гипоксия эндометрия во время менструального кровотечения. Отмечено, что содержание мышцей в условиях гипероксии во время менструации снижает индукцию HIF-1 $\alpha$  и задерживает восстановление эндометрия. Те же эффекты наблюдаются при генетическом или фармакологическом снижении уровня HIF-1 $\alpha$  в эндометрии [103].

Известно, что в условиях гипоксии HIF-1 $\alpha$  способен связываться с чувствительными к гипоксии элементами различных генов, включая VEGF-A, тем самым активируя путь HIF-1 $\alpha$ /VEGF - ключевого игрока в ангиогенезе [126].

Гипоксия увеличивает экспрессию VEGF через HIF-1 $\alpha$  в эпителиальных клетках эндометрия и первичных стромальных клетках эндометрия человека [221].

Вклад ангиогенеза в развитии АМК сложен и многогранен. При АМК в патогенез вовлекаются различные проангиогенные и антиангиогенные факторы, формируя потенциальные терапевтические мишени [36, 63, 77, 131, 139, 170, 171, 179]. Ангиогенез, процесс формирования новых кровеносных сосудов из уже существующих, жестко регулируется балансом между проангиогенными факторами, такими как VEGF, ангиопоэтины, ММП и антиангиогенными факторами [77,179].

При состояниях, ассоциированных с АМК-Е, нарушение регуляции ангиогенеза ассоциируется с изменениями сосудистой архитектуры в эндометрии [77, 139, 170]. Это может приводить к повышению хрупкости и проницаемости сосудов, существенно способствуя развитию АМК. Например, в различных исследованиях стабильно наблюдают увеличение уровней VEGF у пациенток с АМК-Е по сравнению с контрольной группой [36]. Аналогично, выявленные изменения в соотношении ангиопоэтин-1 : ангиопоэтин-2 указывают на нарушение процессов сосудистого созревания, необходимого для формирования стабильных кровеносных сосудов [36].

Гормональное влияние на ангиогенез еще больше усложняет эти взаимосвязи. Известно, что эстрогены быстро повышают экспрессию VEGF через элементы эстрогенового ответа гена *VEGF*, указывая на прямую транскрипционную регуляцию через классические ядерные эстрогеновые рецепторные пути [131]. Прогестины также модулируют экспрессию VEGF, но эти механизмы менее понятны, чем эстроген-опосредованные.

Клинические последствия выходят за рамки понимания сугубо патофизиологии АМК, но последняя открывает возможности поиска таргетной терапии, направленной на коррекцию aberrантных ангиогенных расстройств. В нескольких исследованиях с различной степенью успеха изучали терапевтические вмешательства, нацеленные на эти пути. Например, такие фармакологические агенты, как агонисты гонадотропин-рилизинг гормона или улипристала ацетат,

показывают потенциал в снижении ангиогенных параметров, включая уровни VEGF, за счет потенциального уменьшения симптомов, связанных с АМК [77].

Кроме того, новые диагностические подходы, использующие понимание гипоксии в ткани эндометрия как состояния, тесно связанного с нарушением регуляции ангиогенеза, весьма перспективны для неинвазивного выявления его дисфункции во время менструации с помощью методов МРТ наряду с молекулярными маркерами, такими как ADM и CXCR4, экспрессия которых зависит от гипоксических условий в менструальной эндометрии [171].

В то же время, понимание роли гипоксии и ангиогенных факторов в патогенезе АМК-Е открывает новые возможности для разработки таргетной терапии, направленной на коррекцию aberrantных ангиогенных процессов. Фармакологические агенты, модулирующие экспрессию VEGF и других ангиогенных факторов, имеют существенный потенциал преимуществ для снижения симптомов АМК, вызванных такими заболеваниями, как миома или аденомиоз.

Таким образом, дальнейшее изучение молекулярных механизмов, регулирующих ангиогенез в эндометрии, и разработка новых диагностических и терапевтических подходов, основанных на этих знаниях, имеют важное значение для улучшения тактики ведения пациенток с АМК-Е и повышения качества их жизни.

Проведенный анализ источников литературы показал, что АМК имеют многофакторную этиологию, включающую структурные и неструктурные причины. Среди последних первичная дисфункция эндометрия (АМК-Е) занимает особое место. Ее патогенез, очевидно, связан с нарушениями ангиогенеза, пролиферации и гемостаза в эндометрии. Ожирение, ассоциированное с хроническим воспалением и дисбалансом адипокинов, может оказывать системное влияние на функцию эндометрия и способствовать развитию АМК за счет дисбаланса процессов регуляции нормальной менструации.

На сегодняшний день доказана роль ряда про- и антиангиогенных факторов (VEGF, ангиопоэтины, матриксные металлопротеиназы), маркеров пролиферации

(Ki-67, PCNA) и гипоксии (HIF-1 $\alpha$ ) в регуляции циклических изменений эндометрия и в патогенезе АМК. Также установлено, что ожирение ассоциировано с повышением риска некоторых вариантов АМК, а также рецидивирующего течения заболевания.

Подводя итог анализу литературных источников, можно заключить, что до настоящего времени АМК остаются широко распространенным заболеванием, представляющим проблему для женщин репродуктивного возраста, ввиду существенного негативного влияния на качество жизни и проблему для систем здравоохранения, ассоциированную со значительным экономическим бременем. Ожирение, достигшее масштабов эпидемии в современном мире, может играть важную роль в патогенезе АМК, которое, по сути, может иметь все признаки его осложнения (АМК-Е, АМК-О, АМК-М).

Однако все еще недостаточно изучены аспекты молекулярных механизмов влияния ожирения на функцию эндометрия, развитие и структуру АМК. Требуется уточнения спектр причин АМК у пациенток с ожирением в сравнении с женщинами с нормальной массой тела. Мало изучена роль генетических факторов, в частности полиморфизмов генов, вовлеченных в регуляцию ангиогенеза, гипоксии, воспаления и энергетического метаболизма, в формировании предрасположенности к АМК при ожирении. Нуждается в дальнейшем изучении патогенетическое значение локальных изменений экспрессии маркеров ангиогенеза и пролиферации в эндометрии у пациенток с ожирением и АМК. Наконец, отсутствуют валидированные модели оценки персонализированного риска рецидивов АМК у женщин репродуктивного возраста с ожирением.

Таким образом, планируемое исследование, направленное на комплексную оценку патогенетического и прогностического значения эпидемиологических, клинических, генетических факторов и морфофункциональных параметров эндометрия при АМК и ожирении в репродуктивном возрасте, представляется весьма актуальным. Полученные результаты позволят расширить фундаментальные представления о механизмах взаимного влияния ожирения и дисфункции эндометрия, определить новые маркеры персонализированного риска

рецидивов АМК и создать предпосылки для оптимизации лечебно-профилактических подходов у данной категории пациенток. Это в полной мере соответствует современной концепции предиктивной и превентивной медицины в гинекологической практике и отвечает задачам соответствующей государственной стратегии [21].

## ГЛАВА 2. ДИЗАЙН И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Дизайн исследования и характеристика его объектов

Исследование выполнено в период 2022–2024 гг. на клинической базе кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии МИ РУДН им. П. Лумумбы (зав. кафедрой – засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, д.м.н., проф. В.Е. Радзинский), в гинекологическом отделении ГБУЗ «ГКБ имени В.М. Буянова ДЗМ (зав. отделением – к.м.н. О.А. Демина).

Настоящее исследование было открытым, наблюдательным, комбинированным (включало ретро- и проспективные этапы). Объектом исследования явились женщины репродуктивного возраста с АМК, экстренно госпитализированные в ГБУЗ «ГКБ имени В.М. Буянова» ДЗМ.

Первый этап (ретроспективный) включал выкопировку данных с элементами экспертного анализа из первичной медицинской документации участниц исследования с верифицированным диагнозом АМК (N92.0, N92.3).

Критериями включения в ретроспективное исследование послужили: возраст 18 - 49 лет; наличие диагноза АМК (N92.0, N92.3). Критериями исключения из первого этапа исследования выступало отсутствие клинико-анамнестических данных.

Заданным критериям включения/исключения в ретроспективное исследование соответствовали 632 женщины, обратившихся в гинекологическое отделение ГКБ имени В.М. Буянова ДЗМ города Москвы в 2019 году. При планировании исследования был намеренно взят год, предшествовавший пандемии COVID-19, которая существенно изменила структуру показаний к госпитализации, включая АМК [7]. Согласно дизайну исследования, изучаемая когорта женщин была разделена на две группы в зависимости от наличия ожирения (E66.0). Объектом исследования первой группы были 360 пациенток с АМК, имеющих ИМТ выше 30 кг/м<sup>2</sup>, в группу сравнения были включены 272 пациентки с ИМТ 18,5-24,9 кг/м<sup>2</sup> с АМК.

Задачей ретроспективного этапа было изучить структуру причин

госпитализации в гинекологический стационар в доковидном периоде, а также структуру причин АМК у пациенток с ожирением в репродуктивном возрасте, выявить ее особенности в сравнении с нормовесными. Для оценки структуры причин АМК на ретроспективном этапе был проведен анализ анамнестических данных, клиничко-диагностических методов исследования, заключений патоморфологического исследования биоптатов эндометрия, оказанных лечебных мероприятий и их эффективность.

На втором этапе исследования (проспективном) выявляли клиничко-анамнестические факторы риска, проводили молекулярно-генетическое исследование на определение однонуклеотидных полиморфизмов ДНК и устанавливали морфофункциональные отличия эндометрия пациенток с АМК и ожирением в сравнении с нормовесными и пациентками группы контроля.

Объектом исследования в проспективном этапе стали женщины с АМК в репродуктивном возрасте, соответствовавшие заданным критериям включения, которые были госпитализированы в гинекологический стационар (основная группа). С целью выявления клиничко-анамнестических, молекулярно-генетических и патоморфологических особенностей у женщин с АМК и ожирением, участницы этого этапа были стратифицированы на две группы в зависимости от наличия ожирения. В первую группу второго этапа исследования вошли пациентки с АМК и ожирением ( $\text{ИМТ} \geq 30 \text{ кг/м}^2$ ), во вторую – нормовесные с АМК ( $\text{ИМТ}=18,5-24,9 \text{ кг/м}^2$ ).

Критерии включения в первую группу являлись: возраст от 18 лет до 49 лет; наличие АМК, соответствующего международным диагностическим критериям (FIGO, 2018); регулярный менструальный цикл; верифицированное ожирение (E66.0); русская национальность; проживание в Центральной России; наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании.

Критериями включения во вторую группу являлись: возраст от 18 лет до 49 лет; наличие АМК, соответствующего международным диагностическим критериям (FIGO, 2018); регулярный менструальный цикл;  $\text{ИМТ}= 18,5-24,9 \text{ кг/м}^2$ ; русская национальность; проживание в Центральной России; наличие письменного

информированного согласия на участие в исследовании. Критерии исключения из исследования были общими для первой и второй группы: беременность, врожденные нарушения системы гемостаза, прием гормональных препаратов в течение трех месяцев, предшествующих настоящему исследованию; наличие экстрагенитальных заболеваний в состоянии суб- и декомпенсации; инфицирование вирусом иммунодефицита, гепатитами В, С; не соблюдение рекомендаций врача.

Заданным критериям включения для первой группы соответствовали 84 пациентки, для второй – 75 женщин, госпитализированных в гинекологическое отделение ГKB имени В.М. Буянова ДЗМ в период 2022 - 2023гг.

В группу генетического и морфологического контроля вошли 59 женщин, проходивших ежегодное плановое гинекологическое обследование на амбулаторном этапе в частной клинике «Репролайн» (ООО Центр Репродукции «Линия Жизни», гл. врач - А.С. Дешеулин), соответствовавшие критериям включения.

Критериями включения в контрольную группу явились: возраст 18-49 лет; отсутствие симптомов АМК в течение жизни; нормальный менструальный цикл, соответствующий международным диагностическим критериям FIGO (2018); отсутствие структурных изменений в матки при УЗИ; русская национальность; проживание в Центральной России; наличие информированного согласия на включение в исследование. Критериями исключения из контрольной группы послужили: беременность; прием гормональных препаратов в течение 3х месяцев, предшествующих настоящему исследованию; наличие экстрагенитальных заболеваний в состоянии суб- и декомпенсации; онкологические заболевания; инфицирование вирусом иммунодефицита, гепатитами В, С.

С целью выявления факторов риска рецидивов АМК у женщин с ожирением в репродуктивном возрасте, пациентки с АМК и ожирением (n=84) были стратифицированы на две группы: I группа – АМК, рецидив (n=38) и II группа – АМК, первичный эпизод (n=46). Дизайн диссертационного исследования представлен на Рисунке 1.



Рисунок 1 - Дизайн диссертационного исследования

В сформированной когорте всем пациенткам проводили анкетирование, лабораторное обследование (клинический анализ крови, биохимический анализ крови, гемостазиограмма), сонографическое (УЗИ) и патоморфологическое исследования, а также молекулярно-генетическое исследование однонуклеотидного полиморфизма генов *eNOS* (T786C, rs2070744), *VEGF-A* (C2578A, rs699947), *VEGF-A* (G634C, rs2010963), *HIF-1A* (C1772T, rs11549465), *IL6* (C174G, rs1800795), *ESR1* (G/A, rs2228480), *PPAR-G* (Gly482Ser, rs8192678).

В зависимости от результатов патоморфологического исследования из первой и второй групп пациенток были отобраны 40 женщин с АМК без структурных изменений матки (отсутствие полипов эндометрия, аденомиоза, лейомиомы, ГЭ и РЭ), относящихся к категории АМК-Е. В сформированной выборке был проведен сравнительный анализ морфофункционального состояния эндометрия, ИГХ исследование с последующей морфометрической оценкой экспрессии маркеров ангиогенеза и пролиферации CD34, eNOS и ARID1a в эндометрии, полученном в результате отдельного диагностического выскабливания или аспирационной биопсии эндометрия. В качестве морфологического контроля использовали биоптаты эндометрия 10 женщин без АМК в анамнезе, полученные на 2-3й день менструального цикла.

С целью расширения представлений о патогенезе АМК-Е у женщин с ожирением был выполнен поиск патогенетически значимой ассоциации между изучаемыми ИГХ маркерами с использованием корреляционного анализа.

Для оценки возможной генетической детерминированности АМК в репродуктивном возрасте оценивали значимость взаимосвязи между встречаемостью изучаемых полиморфизмов генов и уровнем экспрессии ИГХ маркеров в ткани эндометрия.

Для построения математических моделей прогнозирования персонального риска рецидивов АМК у пациенток с ожирением и определения тактики их ведения в условиях амбулаторно-поликлинической помощи использовали массив клинико-анамнестических, генетических и ИГХ характеристик, параметры пациенток подвергали статистическому анализу.

Исследование проводили в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных и медицинских исследований с участием человека» с поправками 2012 года и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003г., № 266. Исследование одобрено этическим комитетом РУДН. Все пациентки были проинформированы о целях, задачах и условиях исследования и дали свое добровольное согласие на участие в нем.

## **2.2 Методы исследования**

Все женщины, включенные во второй этап диссертационного исследования, были обследованы согласно действующим клиническим рекомендациям МЗ РФ: «Аномальные маточные кровотечения» (2021) [10]. На этапе поступления пациенток в гинекологический стационар осуществляли сбор жалоб, анамнестических данных, физикальное обследование. При сборе анамнеза делали акцент на возраст, семейное положение, трудовой статус, перенесенные и хронические экстрагенитальные заболевания, вредные привычки. По завершению сбора анамнеза каждой пациентке выдавали анкету, дополняющую анамнестические сведения (семейное положение, трудовой статус, перенесенные хронические болезни, вредные привычки), наследственный (экстрагенитальные и гинекологические заболевания у родственников первой и второй линии родства) и акушерско-гинекологический анамнез (возраст менархе и коитархе; становление, длительность, регулярность, болезненность менструаций, длительность менструального цикла, объем менструальных выделений; количество используемых гигиенических средств во время менструации, степень защиты гигиенических средств, смена гигиенических средств в ночное время; количество беременностей и родов, их течение, исходы и осложнения; гинекологические заболевания, наличие аборт и метод прерывания) уточняли наличие оперативных вмешательств и травм в анамнезе. Полученные данные сводили в специально разработанную многопольную таблицу.

Подробно изучали анамнез основного заболевания (количество эпизодов АМК, возраст на момент первого эпизода АМК, лечебные мероприятия с целью купирования эпизода АМК, профилактика повторных эпизодов АМК).

Антропометрические показатели отражали с помощью ИМТ, который рассчитывали по формуле Адольфа Кетле:  $\text{ИМТ} = \text{масса (кг)}/\text{рост (м}^2\text{)}$ . Полученные значения интерпретировали согласно классификации ВОЗ (2000) [215], где ИМТ менее  $18,5 \text{ кг/м}^2$  - дефицит массы тела; нормальным считали ИМТ от  $18,5$  до  $24,9 \text{ кг/м}^2$ ; к избыточной массе относили пациенток с ИМТ от  $25$  до  $29,9 \text{ кг/м}^2$ . Ожирение I степени определяли как ИМТ от  $30$  до  $34,9 \text{ кг/м}^2$ ; II степени – от  $35$  до  $39,9 \text{ кг/м}^2$ ; III степени – более  $40 \text{ кг/м}^2$ .

Всем пациенткам производили измерение окружности талии (ОТ) и окружности бедер (ОБ), подсчитывали индекс соотношения ОТ к ОБ с целью диагностики абдоминального (висцерального) ожирения [11].

Объективное исследование проводили всем пациенткам, вошедшим в исследование, оно включало: осмотр кожного покрова, осмотр и пальпацию молочных желез, пальпацию регионарных лимфатических узлов. Специальное гинекологическое исследование также осуществляли всем участницам (осмотр наружных половых органов, осмотр влагалища и влагалищной порции шейки матки в зеркалах, бимануальное исследование с последующей интерпретацией согласно общепринятым параметрам). Пациенткам с подозрением на АМК-А также выполняли ректовагинальное исследование [12].

Лабораторное исследование проводили всем пациенткам основной группы на этапе госпитализации, оно включало клинический анализ крови, биохимический анализ крови, гемостазиограмму, анализ крови на определение антител к ВИЧ типов 1 и 2 и антигена p24, антитела классов IgM и IgG к антигенам бледной трепонемы, антитела к вирусу гепатита С класса IgM и IgG и антигена гепатита В (HbsAg), микроскопическое исследование влагалищного отделяемого.

Всем пациенткам основной группы (на госпитальном этапе) и пациенткам контрольной группы (на плановом приеме) выполняли УЗИ органов малого таза с оценкой размеров шейки матки, тела матки, яичников и М-эха, структуры

эндометрия, миометрия и яичников, а также с целью исключения дополнительных объемных образований в малом тазу. Исследование проводили в соответствии с стандартными методиками в реальном времени с использованием ультразвукового аппарата «Medison SonoAce R7» (Samsung, Корея), используя трансвагинальный датчик (конвексный датчик 4-9 МГц).

### **2.2.1 Методы молекулярной генетики**

Молекулярно-генетическое исследование выполняли на кафедре биологии и общей генетики РУДН (зав. кафедрой – д.б.н. М.М. Азова). Для этого цельную кровь пациенток собирали в пробирки для забора крови с К2-ЭДТА. ДНК выделяли с помощью набора реагентов для быстрого выделения ДНК на микроколонках IG-Spin™ DNA Prep 200 (ООО «Лаборатория Изоген», Москва) в соответствии с инструкцией, полученной от производителя. В пробирку объемом 1,5 мл вносили 200 мкл исследуемой пробы, добавляли 800 мкл лизирующего реагента, после чего содержимое пробирки перемешивали переворачиванием (5-10 раз). Далее пробирку со смесью термостатировали в течение 5-7 минут при температуре 65°C. После термостатирования пробирку со смесью центрифугировали в течение 10 сек при 5000 об/мин. Прозрачный супернатант целиком переносили в чистую пробирку. В пробирку с чистой смесью добавляли 40 мкл суспензии сорбента NucleoS, далее пробирку переносили на ротатор, 10 минут перемешивали (20 об/мин) и затем 10 секунд центрифугировали при 5000 об/мин. С помощью водоструйного насоса удаляли супернатант.

Лизирующий реагент в объеме 400 мкл добавляли к осадку и перемешивали на центрифуге Vortex до полного гомогенного состояния. После этого в пробирку добавляли 1 мл заранее приготовленного рабочего раствора солевого буфера, перемешивали содержимое пробирки переворачиванием пробирки 5 раз и центрифугировали 10 сек при 5000 об/мин. С помощью водоструйного насоса удаляли супернатант. Повторно добавляли в пробирку 1 мл солевого буфера, перемешивали содержимое пробирки на центрифуге Vortex, центрифугировали 10

сек при 5000 об/мин., удаляли супернатант с помощью насоса, далее действия повторяли. Осадок сушили при температуре 65°C в течение 4 минут. В пробирку с осадком вносили 200 мкл ЭкстраГена Е. Содержимое пробирки суспендировали на центрифуге Vortex 10 сек до получения гомогенной суспензии, затем термостатировали 4 минуты при температуре 65°C. Далее еще раз суспендировали содержимое пробирки на центрифуге Vortex и центрифугировали в течение 1 минуты при 10000 об/мин. Полученный супернатант с ДНК переносили в чистую пробирку и хранили при температуре -20°C [9].

Однонуклеотидные полиморфизмы ДНК определяли методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием наборов реагентов «SNP-Скрин» (НПК «Синтол», г. Москва). Особенностью последнего является пара аллель-специфических зондов, которые позволяют обнаруживать продукты ПЦР-РВ в двух каналах флуоресценции, что способствует определению индивидуального генотипа (один из трех возможных вариантов), основываясь на результатах анализа двух аллелей исследуемого гена. Характеристика изучаемых аллелей *T786C* гена *eNOS* (*rs2070744*), *C2578A* гена *VEGF-A* (*rs699947*), *G634C* гена *VEGF-A* (*rs2010963*), *C174G* гена *IL6* (*rs1800795*), *C1772T* гена *HIF-1 $\alpha$*  (*rs11549465*), *G/A* гена *ESR1* (*rs2228480*), *Gly482Ser* гена *PPAR-G* (*rs8192678*), представлена в Таблице 1.

Рабочий раствор был приготовлен из компонентов, входящих в состав набора, согласно инструкции производителя. В каждую пробу добавляли по 10 мкл разбавителя, 10 мкл реакционной смеси и 0,5 мкл Taq-полимеразы. После добавления Taq-полимеразы смесь перемешивали и центрифугировали. После этого в каждую пробирку добавляли 5 мкл раствора анализируемой ДНК и центрифугировали пробирки на центрифуге Vortex в течение 3–5 секунд при комнатной температуре. В качестве амплификатора для проведения ПЦР использовали BIO-RAD CFX96 с программным обеспечением CFXManager™ (США) и программу амплификации, предложенную протоколом «Синтол»: начальная денатурация при 95°C в течение 3 минут (1 цикл), затем 95°C в течение 15 секунд, 63°C в течение 40 секунд.

Таблица 1 – Характеристика изучаемых генов

Символ	Название гена	Расположение	Кол-во экзонов	ID гена	MIM	Тип гена	Функция
eNOS; eNOS; ECNOS rs2070744	синтаза оксида азота [Homo sapiens (human)]	7q36.1	28	4846	163729	Кодирующий белки	Биологический посредник в нескольких процессах (ангиогенез)
HIF 1A: HIF1; MOP1; PASD8; HIF-1A; bHLHe78; HIF-1 $\alpha$ ; HIF1- $\alpha$ ; HIF-1- $\alpha$	альфа-субъединица фактора 1, индуцируемого гипоксией [Homo sapiens (human)]	14q23.2	16	3091		Кодирующий белки	Главный регулятор клеточного и системного гомеостатического ответа на гипоксию
ESTR1: ER; ESR; Era; ESRA; ESTRR; NR3A1	рецептор эстрогена 1 [Homo sapiens (human)]	6q25.1-q25.2	22	2099		Кодирующий белки	Кодирует рецептор эстрогена и активируемый лигандом фактор транскрипции
IL-6: CDF; HGF; HSF; BSF2; IL-6; BSF-2; IFNB2; IFN- $\beta$ -2	интерлейкин-6 [Homo sapiens (human)]	7p15.3	5	3569		Кодирующий белки	Вовлечен в широкий спектр болезненных состояний, связанных с воспалением
VEGF: VPF; VEGF; MVCD1	сосудисто-эндотелиальный фактор роста A [Homo sapiens (human)]	6p21.1	9	7422	192240	Кодирующий белки	Индуктирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток сосудов
PPAR-G: GLM1; CIMT1; NR1C3; PPARG1; PPARG2; PPARG5; PPAR $\gamma$	гамма-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом [Homo sapiens (human)]	3p25.2	14	5468	601487	Кодирующий белки	Индуктирует пролиферацию пероксисом, отвечающих за окисление жирных кислот

### **2.2.2 Патоморфологическое и иммуногистохимическое исследования биоптатов эндометрия**

Патоморфологическое исследование биоптатов эндометрия у пациенток основной группы осуществляли в патологоанатомическом отделении ГБУЗ «ГКБ имени В.М. Буянова ДЗМ» (зав. отделением – Н.В. Петренко). Патоморфологическое исследование биоптатов эндометрия у пациенток контрольной группы и ИГХ исследование у пациенток основной и контрольной групп производили в патологоанатомическом отделении с лабораторией иммуногистохимии ФГБНУ «НИИ АГиР имени Д.О. Отта» (зав. отделением – д.м.н. Г.Х. Толибова, зав. лабораторией – д.м.н. Т.Г. Траль).

Биоптат эндометрия пациенток основной группы получали под контролем гистероскопии с помощью диагностического выскабливания стенок полости матки или аспирационной биопсии эндометрия во время госпитализации пациентки в гинекологическое отделение.

Диагностическое выскабливание стенок полости матки под контролем гистероскопии выполняли под внутривенной анестезией. В асептических условиях после обработки наружных половых органов шейку матки обнажали в зеркалах, для фиксации шейки матки на переднюю и заднюю губу накладывали пулевые щипцы. С целью измерения длины полости матки производили зондирование полости матки, далее с помощью расширителей Гегара расширяли цервикальный канал до 7 см. После адекватного расширения цервикального канала тубус гистероскопа (фирма Karl Storz) вводили в полость матки, выполняли визуализацию полости матки. Далее осуществляли кюретаж стенок полости матки, полученный материал погружали в контейнер с 10% нейтральным забуференным раствором формалина и хранили в холодильнике при температуре от +2°C до +4°C.

Аспирационную биопсию осуществляли согласно следующей методики: в асептических условиях шейку матки обнажали в зеркалах, при возникновении трудностей при прохождении цервикального канала шейку матки фиксировали пулевыми щипцами. В полость матки через цервикальный канал вводили зонд урогенитальный тип С «Пайпель» (Unicorn Med, г. Санкт-Петербург). С помощью

оттягивания поршня создавали отрицательное давления и двигали инструмент вперед-назад 4 раза. После получения достаточного количества материала пайпель извлекали из полости матки, содержимое пайпеля помещали в контейнер с 10% нейтральным забуференным раствором формалина и хранили в холодильнике при температуре от +2°C до +4°C.

У пациенток контрольной группы биоптат эндометрия получали методом аспирационной биопсии на 2-3й день нормального менструального цикла. Перед выполнением данной манипуляции контрольной группе во вторую фазу цикла производили забор материала для микроскопии мазка из уретры, цервикального канала и влагалища, аспирационную биопсию выполняли только при подтвержденном нормоценозе по результатам вышеуказанного исследования. Техника забора эндометрия методом аспирационной биопсии была аналогичной вышеописанной.

Перед выполнением гистологического исследования биоптаты эндометрия подвергали первоначальной 24-часовой фиксации в 10% нейтральном забуференном растворе формалина. После фиксации эндометрий подвергали гистологической проводке в гистологическом процессоре Histo-Tek VP1 для вакуумной инфильтрации, полученный материал заливали в парафиновые блоки. С целью получения срезов тканей толщиной 4 мкм проводили микротомирование с последующей гистологической окраской гематоксилином и эозином. При помощи светового микроскопа исследовали готовые микропрепараты при увеличении x100, x200, x400. ИГХ исследование с антителами ARID1a, CD34, eNOS осуществляли в ручном режиме. Характеристика антител указана в Таблице 2.

Таблица 2 – Панель антител для иммуногистохимического исследования

Антитело	Источник	Клон	Разведение	Производитель
ARID1a	Rabbit	EPR13501-73	1:500	Абсам (Великобритания)
CD34+	Mouse	QBEnd-10	1:25.	Dako Сytomation (Дания)
e-NOS	Mouse	RN	1:60	Leica (Франция)

ИГХ исследование выполняли на парафиновых срезах толщиной 4 мкм, которые наносили на предметные стекла, предварительно покрытые поли-L-лизином (Sigma, Япония). Для визуализации использовали Dako Cytomation LSAB2 System-HRP (Dako, Дания) и abcam Mouse and Rabbit Specific HRP Plus (ABC) Detection IHC Kit (RTU) [ab93697] (Abcam, Великобритания). Для осуществления ИГХ реакции применяли стандартный одноэтапный протокол с демаскированием антигена, осуществляемым путем высокотемпературной обработки ткани в 0,01 М цитратном буфере при pH 6,0.

Стекла со срезами помещали в термостат (+56°C) на 30 минут, далее депарафинизировали в ксилоле 30 минут. Дегидратацию осуществляли в серии спиртов нисходящей концентрации 90%, 75%, 50% для всех антител, независимо от производителя. В течение 10 минут промывали препарат в дистиллированной воде. Демаскировку антигенов производили в цитратном буфере при pH 6.0 в течение 20 минут, далее выполняли промывку в Wash-буфере 10 минут. Блокирование эндогенной пероксидазы выполняли в 3% водном растворе перекиси водорода в течение 15 минут, после чего промывали препарат в дистиллированной воде 3 минуты и в Wash-буфере 10 минут. На стекла наносили Protein Block (20-40 мкл), проводили инкубацию во влажной камере при комнатной температуре 5 минут с последующим промыванием в дистиллированной воде 2 минуты и в Wash-буфере 10 минут. Далее наносили первичные антитела (50-100 мкл) и проводили инкубацию препаратов во влажной камере термостата (температуру и время определяли по рекомендации производителя антител: ARID1A и eNOS - при 37°C в течение 30 минут, для CD34+ - при комнатной температуре 30 минут, после чего промывали в дистиллированной воде дважды по 1 минуте и в Wash-буфере в течение 10 минут. Далее на стекла наносили BiotinylatedGoatAnti-Polyvalent (20-40 мкл) и инкубировали во влажной камере 15 минут, с последующим промыванием в дистиллированной воде 2 минуты и в Wash-буфере 10 минут. На стекла наносили StreptavidinPeroxidase (20-40 мкл) и инкубировали во влажной камере в течение 15 минут с последующим промыванием в дистиллированной воде 2 минуты и в Wash-буфере 10 минут. Выявляли пероксидазу хрена диаминобензидином. Раствор

готовили *ex tempore* 1:50, ход реакции контролировали под микроскопом. Далее окрашивали гематоксилином 3 секунды, промывали в теплой проточной воде в течение 3 минут и высушивали препарат, для просветления последний оставляли в ксилоле на 10 минут. Заключали препараты под покровное стекло в монтирующую среду.

Для общей оценки результатов ИГХ реакции полученные микропрепараты эндометрия были исследованы под микроскопом с настройкой освещения по методу Келлера с использованием увеличения 40×, 100×, 200× и 400×. С помощью системы фиксации микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Olympus CX43 и программного обеспечения «VideoZavr», для количественной оценки ИГХ реакции было сделано 1500 микрофотографий. Фотосъемка исключала поля зрения, где наблюдались дефекты ткани, аномалии окрашивания и другие артефакты. Фотосъемку производили при увеличении 400× (окуляр 10×, объектив 40×) в режиме Photo. Время экспозиции составляло 1/38 с, чувствительность камеры была на максимальном уровне. Размер изображения составлял 1280x804 пикселей, а форматом изображения был выбран JPEG (normal). Оценку ИГХ окрашивания маркера ARID1a осуществляли отдельно в железах и строме эндометрия, для антител к CD34+ и eNOS – только в строме эндометрия. Используя программу VideoTest-Morphology 5.2 (ВИДЕОТЕСТ, Россия), производили расчет доли площади занимаемой экспрессии изучаемого маркера. В каждом срезе в 10 полях зрения оценивали следующие показатели:

– оптическую плотность экспрессии – величину вычисляли автоматически в программе «ВидеоТест-Морфология 5.0» в соответствии с законом Бугера-Ламберта-Бера;

– относительную площадь экспрессии – вычисляли по формуле:

$$S(\%) = \frac{S_{\text{позитив}}}{S_{\text{общая}}} \times 100$$

После этого рассчитывали средние величины исследуемых показателей.

### 2.3 Статистическая обработка массива полученных данных

Полученные данные фиксировали и систематизировали в специально разработанной электронной таблице Microsoft Office Excel 2016. Статистический расчет и анализ производили согласно параметрическим и непараметрическим методам с использованием программы IBM SPSS Statistics v.26 (разработчик – IBM Corporation). Количественные данные проверяли на нормальность распределения, используя критерий Колмогорова-Смирнова (количество исследуемых более 50), а также показатели эксцесса и асимметрии и анализ гистограммы. При  $p < 0,05$  распределение считали ненормальным (т.к. отличия изучаемого распределения и нормального распределения статистически значимы), напротив, при  $p > 0,05$  распределение считали нормальным (т.к. отличия изучаемого распределения и нормального распределения несут существенны). Описание количественных показателей, имеющих нормальное распределение, выполняли с помощью средней арифметической ( $M$ ), стандартного отклонения ( $\pm SD$ ), 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае количественных показателей, отличных от нормального распределения для описания использовали медиану ( $Me$ ), интерквартильный размах ( $Q_1-Q_3$ ). Категориальные данные представляли с помощью абсолютных значений ( $n$ ) и процентных долей (%).

Для сравнения двух группы по количественным переменным, имеющим нормально распределение, использовали  $t$ -критерий Стьюдента, при сравнении трех групп по количественным переменным, имеющим нормальное распределение, использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим post-hoc анализом при получении статистической значимости на первом этапе сравнения (критерий Шеффа – при однородных дисперсиях, критерий Геймса-Хауэлла – при разнородных дисперсиях). В случае количественных переменных, распределения которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовали критерий Манна-Уитни, для сравнения трех групп применяли критерий Краскела-Уоллиса (аналог дисперсионного анализа – ANOVA) с последующим post-hoc анализом при получении статистической значимости на

первом этапе сравнения. Различия показателей считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Сравнение двух групп по номинальному признаку осуществляли с помощью точного критерия Фишера, если минимальное предполагаемое число наблюдений было  $< 10$ , или  $\chi^2$  Пирсона, если минимальное предполагаемое число наблюдений было  $> 10$ . Различия показателей также считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

В случае частоты явлений в каждой группе, не равной 0 или 100%, рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95% ДИ. ОШ определялось как отношение шансов наступления события в группе, подвергнутой данному фактору риска, к шансам наступления события в группе при отсутствии влияния данного фактора. При получении  $ОШ > 1$  считали, что фактор увеличивает шансы наступления события (прямая связь), при  $ОШ < 1$  – что фактор уменьшает шансы наступления события (обратная связь). В каждом случае оценивали статистическую значимость ОШ, исходя из значений 95% ДИ. При наличии значений по одну сторону от единицы делали вывод о статистической значимости выявленной связи.

Для выполнения корреляционного анализа использовали коэффициенты ранговой корреляции Спирмена или Пирсона, в зависимости от характера данных. Полученные значения коэффициента корреляции интерпретировали в соответствии со шкалой Чеддока:  $r < 0,1$  – связь отсутствует,  $0,1–0,3$  – слабая,  $0,3–0,5$  – умеренная,  $0,5–0,7$  – заметная,  $0,7–0,9$  – высокая,  $0,9–0,99$  – очень высокая.

С целью построения прогностической модели риска исходов использовали метод бинарной логистической регрессии. Прогностическую модель описывали уравнением бинарной логистической регрессии:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}, \text{ где } z = a_1x_1 + a_2x_2 + \dots + a_nx_n + a_0,$$

где:  $p$  – вероятность наступления исхода в долях единицы;  $z$  – показатель степени в логистической функции;  $x$  – независимые показатели (факторы), выраженные в номинальной, порядковой или количественной шкале;  $a_1 \dots a_n$  –

коэффициенты регрессии;  $a_0$  – const, постоянная;  $e$  – число Эйлера, математическая константа ( $\approx 2,718$ ). В ходе построения моделей использовали метод пошаговой прямой селекции с применением критерия исключения метода Вальда для отбора переменных. Значимость полученной регрессионной модели определяли с помощью критерия  $\chi^2$ . Долю дисперсии, которую охватывает данная логистическая регрессия, определяли с помощью критерия коэффициента детерминации Найджелкерка.

Диагностическую значимость количественных переменных при прогнозировании исходов, а также качество прогностической модели определяли с помощью метода ROC-кривых. В ходе ROC-анализа рассчитывали площадь под ROC-кривой с 95% ДИ и уровень статистической значимости ( $p < 0,05$ ), соответствующие взаимосвязи определенного исхода и значения логистической регрессии. Значение показателя, выше которого наблюдался риск определенного исхода, определяли в точке cut-off, с соответствующей чувствительностью, специфичностью и диагностической эффективностью прогностической модели.

Выходные данные были сведены в таблицы или диаграммы, представленные в соответствующих разделах диссертации.

## ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН

### 3.1 Ретроспективный этап

В ходе проведенного ретроспективного этапа исследования было выявлено, что АМК в популяции женщин репродуктивного возраста, госпитализированных в гинекологический стационар, занимают лидирующее место в структуре причин госпитализаций и составляют ее пятую долю (Рисунок 2).

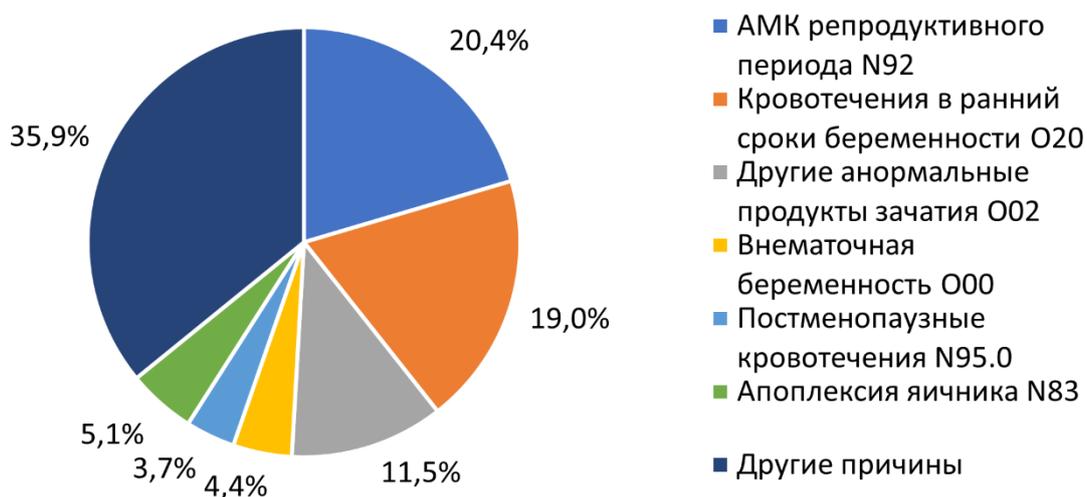


Рисунок 2 - Структура причин госпитализации в гинекологический стационар

С целью выявления особенностей структуры причин АМК у женщин с ожирением был проведен ретроспективный анализ данных 632 пациенток с АМК репродуктивного периода, которых стратифицировали в зависимости от ИМТ: I группа (n=360) – женщины с ИМТ > 30 кг/м<sup>2</sup>; II группа (n=272) – женщины с ИМТ=18,5-24,9 кг/м<sup>2</sup>. Проведенный анализ показал, что доля пациенток с ожирением составила 57,0% и в когорте с АМК их было в 1,3 раза больше, чем нормовесных. Структура причин АМК в исследуемой выборке представлена на Рисунке 3.

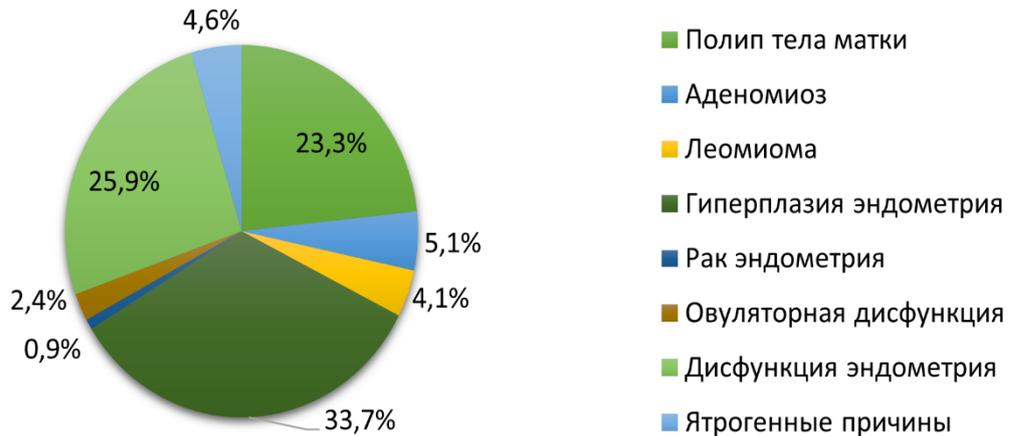


Рисунок 3 – Структура причин АМК в исследуемой выборке

Как видно на диаграмме (Рисунок 3), лидирующее место в структуре причин АМК занимала ГЭ, при этом железистая ГЭ отмечалась в 93,0% наблюдениях, аденоматозная ГЭ – в 7,0%. На втором месте оказалась дисфункция эндометрия, на третьем – полип тела матки. При стратификации пациенток на группы в зависимости от ИМТ было выявлено, что в группе с ожирением (Рисунок 4) первые три места в структуре причин занимали гиперплазия эндометрия, дисфункция эндометрия и полип тела матки.

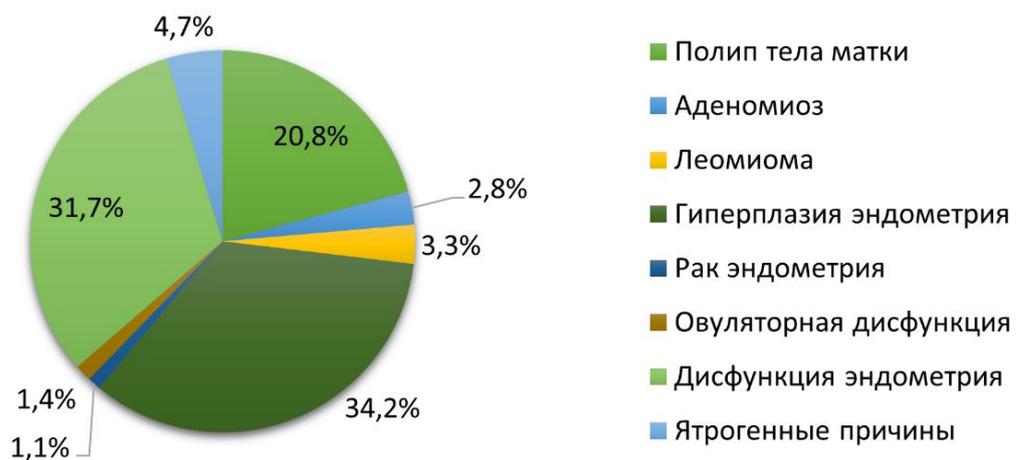


Рисунок 4 – Структура причин АМК у женщин с ожирением

В группе нормовесных (Рисунок 5) тройка лидирующих причин не отличалась, однако доля ГЭ составила треть случаев ( $p=0,799$ ), а доля женщин с

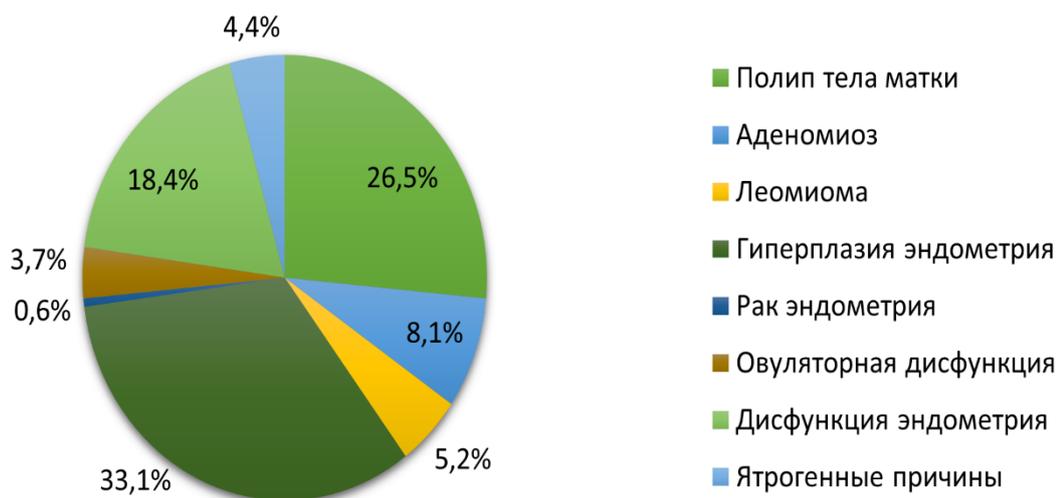


Рисунок 5 – Структура причин АМК у женщин без ожирения

полипом тела матки была больше, в то время как удельный вес АМК, вызванных дисфункцией эндометрия, оказался значимо меньше ( $p < 0,001$ ). Полип тела матки встречался в равной степени у пациенток обеих групп ( $p = 0,129$ ), но доля АМК-А в группе нормовесных была в три раза больше по сравнению с группой с ожирением ( $p = 0,003$ ). Остальные причины, при межгрупповом сравнении значимых различий не имели.

Таким образом, исходя из представленных выше результатов, наиболее частыми причинами АМК у женщин в репродуктивном возрасте следует считать ГЭ, дисфункцию эндометрия и полип тела матки. У женщин с ожирением и нормовесных на первом месте в качестве причин АМК выступала ГЭ, однако при межгрупповом сравнении значимых различий в ее доле в структуре причин выявлено не было ( $p = 0,799$ ). Напротив, доля АМК-Е оказалась больше в 1,7 раз в группе женщин с ожирением в сравнении с нормовесными ( $p < 0,001$ ), что предполагает рассматривать ожирение, как один из факторов риска АМК-Е, а также свидетельствует о том, что ожирение определяет госпитализированную заболеваемость АМК в репродуктивном периоде, поскольку таких пациенток в стационар поступает в 1,3 раза больше, чем нормовесных.

### 3.2 Проспективный этап

В результате анализа клинико-anamнестических особенностей пациенток репродуктивного возраста с АМК и ожирением было установлено, что их средний возраст составил  $35,7 \pm 0,8$  лет (95% ДИ: 34,2–37,2), минимальный – 21 год, максимальный – 49 лет. В группе нормовесных средний возраст был сопоставим –  $36,2 \pm 0,9$  лет (95% ДИ: 34,4–38,0), минимальный возраст составил 19 лет, максимальный – 49 лет ( $p=0,829$ ).

Распределение пациенток сравниваемых групп по возрасту представлено на Рисунке 6.

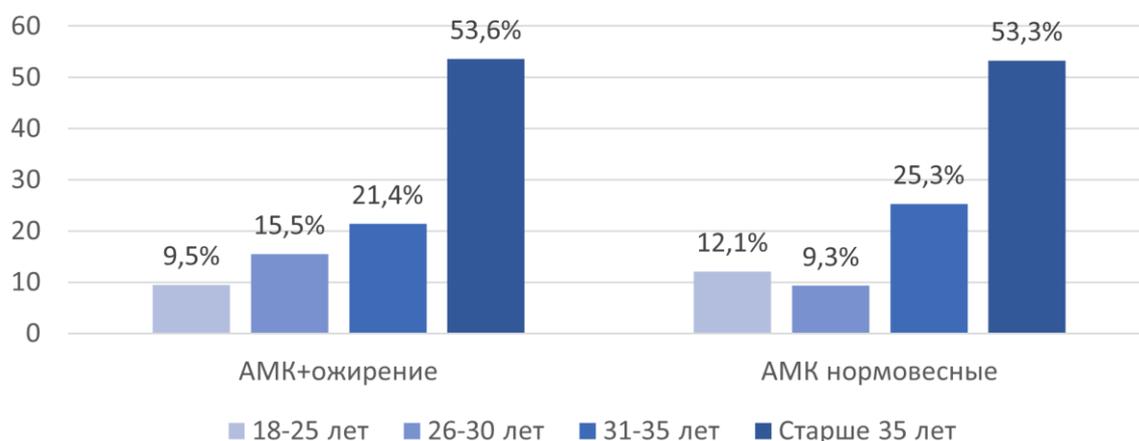


Рисунок 6 – Распределение пациенток исследуемых групп по возрасту

Как видно из диаграммы (Рисунок 6), все возрастные категории были сопоставимы между группами и более половины пациенток от общего числа обеих групп составляли пациентки позднего репродуктивного возраста ( $p=0,651$ ).

Ввиду намеренной стратификации женщин в зависимости от ИМТ, при оценке антропометрических параметров в исследуемых группах было ожидаемо выявлено, что масса тела, ИМТ, ОТ и ОБ у женщин первой группы были значимо выше по сравнению с второй (Таблица 3). У женщин I группы медиана показателя ИМТ составила  $35,2 \text{ кг/м}^2$  ( $Q_1$ - $Q_3$ : 31,2–41), у женщин II группы –  $22,3$  ( $Q_1$ - $Q_3$ : 20,9–24,5,  $p<0,05$ ).

Таблица 3 – Антропометрические показатели в исследуемых группах

Группы Показатели	АМК+ожирение		АМК нормовесные		p
	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	
Рост, см	165	160-169	165	163-170	0,326
Вес, кг	98	78-120	59	56-65	<0,001
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	35,2	31,2-41	22,3	20,9-24,5	<0,001
ОТ, см	108,5	95-122	73,5	69-75	<0,001
ОБ, см	120,5	110-136	94	90-98	<0,001

При распределении пациенток с ожирением на группы в зависимости от степени ожирения было получено, что доля пациенток с ожирением I степени составила 47,6% пациенток, с ожирением II степени – 23,8%, с ожирением III степени – 28,6%.

В ходе анализе данных установлено, что большая доля женщин как в первой, так и во второй группах состояли в зарегистрированном браке (соответственно 43,8% и 56,3%). При сравнении семейного статуса значимых межгрупповых различий обнаружено не было ( $p=0,051$ ).

В обеих группах превалировала доля трудоустроенных, имеющих рабочую профессию (соответственно 53,4% и 52,5%). При сравнении по трудовому статусу между двумя группами значимых различий также обнаружено не было ( $p=0,229$ ).

Доля курящих пациенток (Таблица 4) превалировала в группе с ожирением, их было в 4,8 раз больше, чем в группе нормовесных ( $p<0,001$ ).

Таблица 4 – Употребление табака в исследуемых группах

Группа Показатель	АМК + ожирение		АМК нормовесные		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Факт курения	56	66,7	22	29,3	<0,001
Курение отрицает	28	33,3	53	70,7	<0,001

При анализе частоты употребления алкоголя было зарегистрировано четыре случая (4,8%) злоупотребления в группе пациенток с ожирением и один случай

(1,3%) в группе нормовесных пациенток, совсем не употребляли алкоголь в группе с ожирением 7 пациенток (8,3%), во второй группе – 11 женщин (14,7%). Большая часть респонденток как в первой, так и во второй группе потребляли спиртные напитки нечасто (соответственно 36,9% и 50,7%) или по праздникам (50,0% и 33,3%). Значимых различий между группами выявлено не было ( $p=0,064$ ).

При оценке встречаемости ХЭГЗ в сравниваемых группах было выявлено, что пациентки с АМК и ожирением значимо чаще страдают соматическими заболеваниями (43,5% против 25,7%). Как видно из данных, представленных в Таблице 5, среди ХЭГЗ значимо ( $p<0,05$ ) преобладали анемия и болезни системы кровообращения, в частности, гипертоническая болезнь, которая встречалась в 2 раза чаще у пациенток с ожирением в сравнении с нормовесными, а также варикозное расширение вен нижних конечностей.

Таблица 5 – Встречаемость ХЭГЗ в исследуемых группах

Показатели	Группы		АМК нормовесные		p
	АМК + ожирение		Абс.	%	
Болезни системы кровообращения (МКБ-10: IX)	32	38,1	16	21,3	0,025
Болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением (МКБ-10: I10-I15)	24	28,6	11	14,7	0,037
Болезни вен, лимфатических сосудов и лимфатических узлов, не классифицированные в других рубриках (МКБ-10: I80-I89)	17	20,2	6	8,0	0,041
Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм (МКБ-10: III)	36	42,9	18	24,0	0,018
Болезни органов пищеварения(МКБ-10: XI)	10	11,9	10	13,3	0,815
Болезни мочевыделительной системы (МКБ-10: XIV)	9	10,7	8	10,7	1,000
Болезни органов дыхания(МКБ-10: X)	2	2,4	2	2,7	1,000
Болезни эндокринной системы (МКБ-10: IV)	12	14,3	5	6,7	0,133
Болезни глаза и его придаточного аппарата (МКБ-10: VII)	8	9,5	6	8,0	0,786

Результаты анализа сведений об отягощенном семейном анамнезе - наличие соматических и гинекологических заболеваний у родственников первой и второй линии родства представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Структура заболеваний, отягощающих наследственный анамнез

Показатели \ Группы	АМК + ожирение		АМК нормовесные		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Воспалительные и невоспалительные болезни женских тазовых органов (МКБ-10: XIV)	34	40,5	19	25,3	0,043
Болезни органов пищеварения (МКБ-10: XI)	20	23,8	15	20,0	0,573
Болезни мочевой системы (МКБ-10: XIV)	17	20,2	19	25,3	0,455
Болезни системы кровообращения (МКБ-10: IX)	60	71,4	28	37,3	<0,001
Болезни эндокринной системы (МКБ-10: IV)	32	38,1	23	30,7	0,404
Новообразования (МКБ-10: II)	14	16,7	17	22,7	0,423
Ожирение и другие виды избыточности питания (МКБ-10: IV)	47	60,0	8	10,7	<0,001

Как видно из данных Таблицы 6, наследственный анамнез пациенток репродуктивного возраста с АМК и ожирением был значимо более отягощен такими заболеваниями, как болезни органов репродуктивной системы и сердечно-сосудистые заболевания ( $p < 0,05$ ). Также было отмечено, что в группе женщин с ожирением встречаемость ожирения среди родственников была в 6 раз выше ( $p < 0,001$ ) по сравнению с нормовесными пациентками.

При оценке менструальной функции и возраста коитархе (Таблица 7) было выявлено, что в группе женщин с АМК и ожирением менструации были значимо более длительными по сравнению с нормовесными пациентками.

Таблица 7 – Менструальная функция и коитархе женщин с АМК

Показатель \ Группа	АМК+ожирение		АМК нормовесные		p
	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	
Менархе (лет)	12,5	12-14	13	12-14	0,119
Длительность менструаций (дни)	6	5-7	5	5-6	0,039
Продолжительность МЦ (дни)	29	28-30	28	28-30	0,305
Возраст начала половой жизни (лет)	18	17-18	18	17-18	0,933

Полученные данные коррелируют и с различиями в характере менструаций (Таблица 8).

Таблица 8 – Характер менструаций женщин с АМК

Показатель \ Группа	АМК + ожирение		АМК нормовесные		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Умеренные	37	44,0	54	72,0	<0,001
Обильные	47	56,0	21	28,0	<0,001
Болезненные	37	44,0	26	34,7	0,258

Установлено, что женщины с АМК и ожирением имеют значимо более обильные менструации по сравнению с нормовесными. Учитывая полученные данные, было проведено межгрупповое сравнение по количеству и объему средств гигиены, используемых во время менструального кровотечения (Таблица 9).

Таблица 9 – Количество и объем используемых средств личной гигиены у женщин с АМК

Показатель \ Группа	АМК + ожирение		АМК нормовесные		p
	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	
Количество прокладок в день	5	4-5	4	3-4,5	<0,001
Степень защиты прокладок	6	4-6	4	4-5	<0,001

Как видно из данных Таблицы 9, женщины в группе с ожирением использовали значимо больше средств личной гигиены за один день во время менструации, при этом степень защиты используемых средств в этой группе также оказалась достоверно выше. Проведенный анализ показал, что 47,6% женщин первой группы и 25,3% женщин во второй группе были вынуждены менять средства гигиены в ночное время ( $p=0,005$ ).

У женщин с АМК и ожирением был проведен анализ встречаемости заболеваний органов репродуктивной системы в обеих группах (Таблица 10).

Таблица 10 – Встречаемость заболеваний органов репродуктивной системы в анамнезе у женщин сравниваемых групп

Показатель \ Группа	АМК+ожирение		АМК нормовесные		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Лейомиома матки (МКБ-10: D25)	9	10,7	7	9,3	1,000
Эндометриоз (МКБ-10: N80)	11	13,1	10	13,3	1,000
Болезни шейки матки (МКБ-10: N88)	9	10,7	9	12,0	0,808
ИППП в анамнезе (МКБ-10: A50-A64)	3	3,6	1	1,3	0,623
Апоплексия яичника (МКБ-10: N83)	5	6,0	2	2,7	0,448
Воспалительные заболевания вульвы и влагалища (МКБ-10: N76)	7	8,3	2	2,7	0,174
ВЗОМТ (МКБ-10: N70-N77)	17	20,2	6	8,1	0,041
Рубец на матке (МКБ-10: O75.7)	21	25,0	9	12,0	0,043
ДДМЖ (МКБ-10: N60, N64.4)	4	4,8	2	2,7	0,685

Как показали результаты исследования (Таблица 10), в группе с ожирением значимо чаще ( $p<0,05$ ) в сравнении с нормовесными встречались ВЗОМТ (в 2,5 раза) и рубец на матке (в 2,1 раза). В остальном встречаемость гинекологических заболеваний в сравниваемых группах была сопоставима.

Анализ сведений о репродуктивном анамнезе продемонстрировал, что доля пациенток с АМК и ожирением, которые имели беременности в анамнезе, составляла 71,4%, среди нормовесных – 69,3% ( $p=0,862$ ). По количеству беременностей в анамнезе статистически значимых различий зафиксировано не было ( $p=0,694$ ), и в первой, и во второй группе медиана количества беременностей составляла 1 ( $Q_1-Q_3$ : 1–3).

При сравнении исходов беременностей были получены следующие результаты (Таблица 11).

Таблица 11 - Исходы беременностей среди пациенток с АМК

Показатель \ Группа	АМК + ожирение		АМК нормовесные		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Роды	52	61,9	47	62,7	1,000
С/выкидыш	17	20,2	5	6,7	0,02
Неразвивающаяся беременность	7	8,3	5	6,7	0,77
Внематочная беременность	3	3,6	3	4,0	1,000
Аборт	28	33,3	20	26,6	0,391

Как видно из данных, представленных в Таблице 11, при идентичной доле рожавших, в группе пациенток с АМК и ожирением значимо чаще ( $p<0,05$ ) в сравнении с нормовесными встречалось указание на самопроизвольные выкидыши в анамнезе, которых было в три раза больше в сравнении с женщинами второй группы. Доля неразвивающейся и внематочной беременности в анамнезе, а также абортов между группами была сопоставима ( $p>0,1$ ).

В связи с указанием в анамнезе на патологически протекающие беременности, а также аборт в контексте оценки морфофункционального состояния эндометрия представлял интерес анализ способа прерывания беременности и фактов внутриматочных вмешательств (Таблица 12). Результаты демонстрируют, что в группе с АМК и ожирением абсолютно преобладал хирургический метод прерывания нежелательной беременности, в то время как у

Таблица 12 – Сравнительный анализ способов прерывания беременности у пациенток с АМК в сравниваемых группах

Группа / Показатели	АМК + ожирение		АМК нормовесные		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Способ прерывания нежеланной беременности					
Фарм. аборт	2	7,1	9	45,0	0,026
Хирургический метод	26	92,9	11	55,0	0,023
Внутриматочное вмешательство по поводу самопроизвольного выкидыша					
Не проводилось	11	64,7	4	80,0	0,121
Проводилось	6	35,3	1	20,0	
Способ прерывания неразвивающейся беременности					
Медикаментозное прерывание	0	0	3	60,0	0,045
Хирургический метод	7	100	2	40,0	

нормовесных преимущественным методом прерывания беременности был фармакологический аборт. В ситуациях с неразвивающейся беременностью доля хирургического прерывания в первой группе также оказалась в 2,5 раза больше (Таблица 12).

При УЗИ органов малого таза на момент поступления пациенток в приемное отделение было выявлено, что медиана толщины М-эхо у пациенток с АМК и ожирением составляла 9 мм ( $Q_1$ – $Q_3$ : 6–12), у нормовесных – 10 мм ( $Q_1$ – $Q_3$ : 7–12), значимых различий получено не было ( $p=0,587$ ).

Проведенный анализ показал, что по числу рецидивов АМК в анамнезе обе группы были сопоставимы: в первой группе – 45,2% пациенток, во второй – 45,3% ( $p=1,000$ ). Среднее количество эпизодов в первой группе составляло  $1,79 \pm 0,2$  (95% ДИ: 1,46–2,11), во второй –  $1,61 \pm 0,1$  (95% ДИ: 1,42–1,81) ( $p=0,375$ ). Максимальное количество эпизодов в первой группе было 11, во второй – 5. Средний возраст на момент первого эпизода АМК при ожирении составил  $32,5 \pm 1,1$  лет (95% ДИ: 30,3–34,7), во второй –  $34,9 \pm 0,8$  лет (95% ДИ: 33,3–36,5), различия достоверны ( $p<0,05$ ).

При сравнении методов лечения предыдущих эпизодов АМК было установлено, что пациентки с ожирением значимо чаще ( $p=0,041$ ) подвергались хирургическим методам (81,6% против 58,8%), консервативно были пролечены соответственно 18,4% и 41,2% женщин. Положительный эффект от терапии был достигнут у 71,1% пациенток с ожирением и у 52,2% нормовесных ( $p=0,001$ ).

Средний возраст манифестации ожирения у женщин первой группы составил  $21,1 \pm 1,1$  (95% ДИ: 19–23,2), минимальный возраст начала заболевания составил 6 лет, максимальный – 47 лет.

При сравнении возраста манифестации АМК и ожирения была установлена значимая прямая корреляционная связь ( $r_{xy}=0,426$ ;  $p<0,001$ ), по шкале Чеддока связь имела умеренную тесноту.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что пациентки сравниваемых группы были сопоставимы по возрасту ( $p=0,387$ ). В группе женщин с ожирением было значимо больше курящих на момент исследования (66,7% против 29,3% у нормовесных,  $p<0,001$ ). Выявлено, что для женщин с АМК и ожирением более характерны сердечно-сосудистые заболевания (38,1% против 21,3%,  $p=0,025$ ), в том числе гипертоническая болезнь (28,6% против 14,7%,  $p=0,037$ ) и варикозная болезнь вен нижних конечностей (20,2% против 8,0%,  $p=0,041$ ), особо следует выделить анемию (42,9% против 24,0%,  $p=0,018$ ), которой страдала практически каждая вторая. Особенности наследственного анамнеза пациенток с АМК и ожирением позволяют думать о возможной генетической детерминированности этих заболеваний: у родственников I и II линии родства значимо чаще регистрировались заболевания органов репродуктивной системы (40,5% против 25,3%,  $p=0,043$ ), сердечно-сосудистые заболевания (71,4% против 37,3%,  $p<0,001$ ) и ожирение (60,0% против 10,7%,  $p<0,001$ ).

Выявлены клинические отличия менструаций у женщин с ожирением: они более длительные [6 дней ( $Q_1$ – $Q_3$ : 5–7) против 5 дней ( $Q_1$ – $Q_3$ : 5–6),  $p=0,039$ ] и сопровождаются большим объемом менструальной кровопотери (56,0% против 28,0%,  $p<0,001$ ), вследствие чего женщины затрачивают большее количество средств личной гигиены во время менструального кровотечения [5 ( $Q_1$ – $Q_3$ : 4–5)

против 4 ( $Q_1-Q_3$ : 3–4,5),  $p<0,001$ ], а также вынуждены использовать гигиенических средства с более высокой степенью защиты [6 ( $Q_1-Q_3$ : 4–6) против 4 ( $Q_1-Q_3$ : 4–5),  $p<0,001$ ] и менять гигиенические средства в ночное время (47,6% против 25,3%,  $p<0,001$ ). В ходе исследования установлено, что в группе с АМК и ожирением значимо выше доля пациенток, имеющих рубец на матке (25,0% против 12,0%,  $p=0,043$ ) и ВЗОМТ в анамнезе (20,2% против 8,1%,  $p=0,041$ ) несмотря на то, что доля женщин, имеющих беременности и роды в анамнезе, в обеих группах была сопоставима ( $p>0,05$ ).

Полученные данные свидетельствуют, что в группе с ожирением пациентки чаще подвергались хирургическому методу прерывания как нежеланной (92,9% против 55,0%,  $p=0,023$ ), так и патологически протекающей (неразвивающейся) беременности (100% против 40,0%,  $p=0,045$ ), что коррелирует с увеличением доли самопроизвольного выкидыша в анамнезе, которое было выше в группе с ожирением (20,2% против 6,7%,  $p=0,02$ ).

С целью выявления факторов риска рецидивов АМК у женщин с ожирением когорта пациенток, страдающих ожирением ( $n=84$ ), была стратифицирована на две группы: I группа – женщины с повторным эпизодом АМК ( $n=38$ ), II группа – впервые возникший эпизод АМК ( $n=46$ ).

В результате проведенного анализа было установлено, что медиана возраста пациенток в группе с АМК рецидив составила  $36,7 \pm 1,1$  лет (95% ДИ: 34,5–38,8), минимальный возраст составлял 23 год, максимальный – 48 лет. В группе АМК первичный эпизод средний возраст был значимо меньше ( $p<0,001$ ) –  $34,9 \pm 1,1$  лет (95% ДИ: 32,7–37,0) и колебался от 21 до 49 лет.

При сравнительной оценке антропометрических параметров выявлена зависимость рецидивов АМК от показателя ИМТ. Так, медиана в группе рецидив составила  $40 \text{ кг/м}^2$  ( $Q_1-Q_3$ : 32–43), в то время как при первичном эпизоде –  $37 \text{ кг/м}^2$  ( $Q_1-Q_3$ : 30–43), ( $p=0,46$ ). Медиана массы тела женщин с рецидивами АМК была на 13 кг выше, чем у женщин с впервые возникшим эпизодом ( $p=0,014$ ). ОТ, ОБ и их соотношение также оказались значимо больше ( $p<0,04$ ) у пациенток группы АМК рецидив (Таблица 13).

Таблица 13 - Антропометрические показатели в исследуемых группах

Показатели \ Группы	АМК рецидив		АМК впервые		p
	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	
Рост, см	165,5	161-169	165	159-169	0,722
Масса тела, кг	104	87-122	91	77-104	0,014
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	38,1	32,9-44	33,7	30,3-38,1	0,006
ОТ, см	117,5	98-127	95	82-105	0,001
ОБ, см	125	110-135	110	103-123	0,002
ОТ/ОБ	0,91	0,85-0,95	0,86	0,76-0,93	0,032

С помощью ROC-анализа были построены кривые зависимости риска возникновения повторного эпизода АМК от массы тела, ОТ и значения индекса ОТ/ОБ (Рисунок 7).

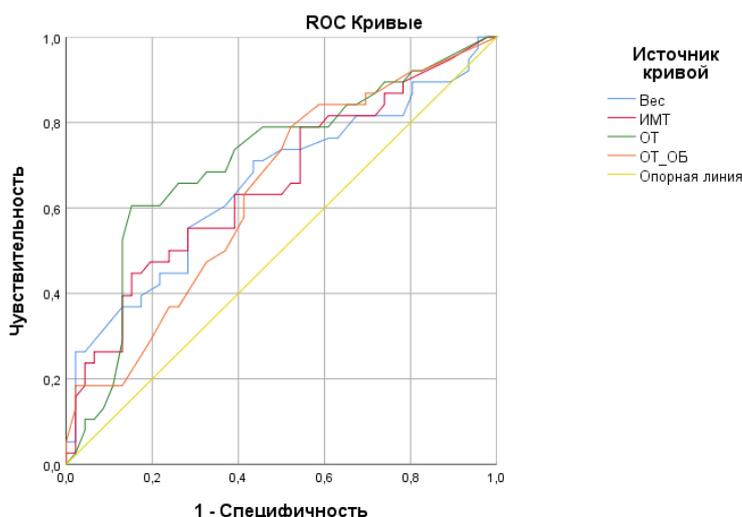


Рисунок 7 – ROC-кривая, характеризующая зависимость наступления рецидива АМК от массы тела, ИМТ, ОТ и значения индекса ОТ/ОБ

Площадь под ROC-кривой, характеризующая зависимость риска рецидива АМК от массы тела, составила  $0,657 \pm 0,06$  (95% ДИ: 0,5–0,8). Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,014$ ). При массе тела  $\geq 96,5$  кг прогнозировался высокий риск рецидивов АМК (чувствительность – 60,5%, специфичность – 63%).

Площадь под ROC-кривой, характеризующая зависимость риска рецидива АМК от ИМТ, составила  $0,657 \pm 0,06$  (95% ДИ: 0,5–0,8). Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,014$ ). При ИМТ  $\geq 35,2$  кг/м<sup>2</sup> прогнозировался высокий риск рецидивов АМК (чувствительность – 63,2%, специфичность – 60,9%).

Площадь под ROC-кривой, характеризующей риск наступления рецидива АМК от ОТ, составила  $0,709 \pm 0,06$  (95% ДИ: 0,6–0,8,  $p=0,001$ ). При ОТ равной 102,5 см и выше прогнозировался высокий риск рецидивов АМК (чувствительность – 68,4%, специфичность – 67,4%).

Площадь под ROC-кривой, характеризующей риск наступления рецидива АМК от значения индекса ОТ/ОБ, составила  $0,636 \pm 0,06$  (95% ДИ: 0,5–0,8). Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,032$ ). При значении индекса ОТ/ОБ  $\geq 0,88$  прогнозировался высокий риск повторных эпизодов АМК (чувствительность – 63,2%, специфичность – 58,7%).

При распределении пациенток сравниваемых групп по степени ожирения (Таблица 14) обнаружено, что доля лиц с ожирением III степени в группе с рецидивами АМК была в 2,5 раза больше по сравнению с группой пациенток, у которых АМК наступило впервые ( $p=0,004$ ).

Таблица 14 - Распределение пациенток исследуемых групп по степени ожирения

Показатели \ Группы	АМК рецидив		АМК впервые		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Ожирение I степени	14	36,8	27	58,7	0,052
Ожирение II степени	7	18,4	12	26,1	0,444
Ожирение III степени	17	44,8	7	15,2	0,004

Проведенный анализ показал, что шанс возникновения рецидивов АМК при наличии ожирения III степени возрастает в 4,5 раза (ОШ=4,5; 95% ДИ: 1,6–12,6).

При анализе социального и трудового статуса значимых межгрупповых различий обнаружено не было ( $p>0,05$ ). Большинство пациенток как в первой (47,4%), так и во второй группе (35,4%) состояли в официально

зарегистрированном браке. Рабочую профессию имели 57,9% женщин в группе с рецидивами АМК и 56,5% - в группе первого эпизода.

Ни замужество, ни наличие работы не имели статистической взаимосвязи с рисками возникновения рецидивов АМК у женщин с ожирением ( $p > 0,05$ ).

В результате анализа данных анкетирования было установлено, что для женщин с рецидивами АМК более характерно употребление табачных изделий. Так доля курящих женщин в группе с рецидивами оказалась в 1,8 раз больше, чем в группе с первым эпизодом ( $p = 0,038$ ) (Таблица 15).

Таблица 15 - Употребление табака в исследуемых группах

Группа	АМК рецидив		АМК впервые		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Показатель					0,038
Факт курения	30	78,9	20	43,5	
Отсутствие курения	8	21,1	26	56,5	

При оценке влияния факта курения на момент госпитализации на рецидивы АМК было выявлено, что курение увеличивает шансы возникновения рецидива АМК у женщин с ожирением в 2,9 раза (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,1–7,6).

Анализ анамнеза употребления спиртных напитков позволил установить, что никто из пациенток не злоупотреблял алкоголем. В обеих группах большинство женщин употребляли алкоголь «только по праздникам» (соответственно 47,4% и 52,2%,  $p = 0,661$ ).

С целью изучения влияния ХЭГЗ на развитие рецидивов АМК у женщин с ожирением, был проведен сравнительный анализ ХЭГЗ в обеих группах. Как видно из данных Таблицы 16, у женщин с рецидивами АМК по сравнению с группой первого эпизода значимо чаще встречаются заболевания ССС (в два раза), причем, в 2,5 раза чаще отмечается гипертоническая болезнь и в 3 раза чаще - варикозная болезнь вен нижних конечностей ( $p < 0,05$ ).

Таблица 16 - Зависимость реализации рецидивов АМК при ожирении от наличия ХЭГЗ

Показатели	Группы	АМК рецидив		АМК впервые		p
		Абс.	%	Абс.	%	
Болезни системы кровообращения (МКБ-10: IX)		21	55,3	11	23,9	0,004
Болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением (МКБ-10: I10-I15)		16	42,1	8	17,4	0,016
Болезни вен, лимфатических сосудов и лимфатических узлов, не классифицированные в других рубриках (МКБ-10: I80-I89)		12	31,6	5	10,9	0,028
Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм (МКБ-10: III)		20	52,6	16	34,9	0,123
Болезни органов пищеварения (МКБ-10: XI)		5	13,2	5	10,9	0,75
Болезни мочевыделительной системы (МКБ-10: XIV)		4	10,5	5	10,9	1,000
Болезни органов дыхания (МКБ-10: X)		1	2,6	1	2,2	1,000
Болезни эндокринной системы (МКБ-10: IV)		8	21,1	4	8,7	0,128
Болезни глаза и его придаточного аппарата (МКБ-10: VII)		6	15,8	2	4,3	0,284

В ходе исследования установлено, что шансы возникновения рецидивов АМК у пациенток с ожирением при наличии сердечно-сосудистых заболеваний увеличиваются без малого в 4 раза (ОШ=3,9; 95% ДИ: 1,6–10). Наличие гипертонической болезни при ожирении (ОШ=3,5; 95% ДИ: 1,3–9,4) увеличивает вероятность рецидивов АМК в 3,5 раза, а варикозное расширение вен нижних конечностей - в 3,8 раз (ОШ=3,8; 95% ДИ: 1,2–12).

При оценке частоты анемии у женщин в сравниваемых группах, значимых различий этого показателя выявлено не было ( $p=0,123$ ). Однако, при распределении пациенток в зависимости от степени анемии, было установлено, что анемия средней степени в группе с первым эпизодом АМК не встречалась, в то время как в группе АМК, протекавших с рецидивами, среднюю степень анемии обнаруживали у каждой пятой, а среднюю и тяжелую суммарно - у каждой четвертой пациентки ( $p<0,05$ ) (Таблица 17).

Таблица 17 - Распределение пациенток исследуемых групп по степени анемии

Показатель \ Группа	АМК рецидив		АМК впервые		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Анемия легкой степени	15	75,0	15	93,75	0,158
Анемия средней степени	4	20,0	0	0	0,0015
Анемия тяжелой степени	1	5,0	1	6,25	0,125

В результате оценки влияния наследственного анамнеза на риски возникновения рецидивов АМК у женщин с ожирением было установлено, что значимых различий в частоте встречаемости наследственных заболеваний между группами выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

Анализ особенностей менструальной функции позволил установить, что у пациенток с ожирением и рецидивами АМК длительность менструации на 1 день дольше по сравнению с женщинами с первичным эпизодом АМК в жизни (Таблица 18). Такие показатели как менархе, коитархе, а также продолжительности менструальной цикла значимых различий между сравниваемыми группами не имели ( $p > 0,05$ ).

Таблица 18 – Менструальная и половая функции женщин с АМК и ожирением

Показатель \ Группа	АМК рецидив		АМК впервые		p
	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	
Менархе (лет)	13	12-14	12	12-14	0,561
Длительность менструаций (дни)	6	5-7	5	5-6	<0,001
Продолжительность МЦ (дни)	29	28-31	28,5	28-30	0,924
Возраст начала половой жизни (лет)	18	17-18	18	16-18	0,073

С помощью ROC-анализа был построен график зависимость вероятности возникновения повторного эпизода АМК от длительности менструального кровотечения (Рисунок 8). Установлено, что площадь под ROC-кривой составила  $0,735 \pm 0,06$  (95% ДИ: 0,6–0,8). Полученная модель была статистически значимой ( $p < 0,001$ ). При длительности менструации  $\geq 6$  дней прогнозировался высокий риск

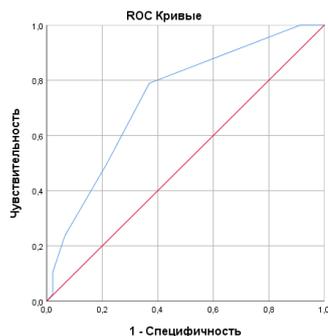


Рисунок 8 – ROC-кривая, характеризующая зависимость наступления рецидива АМК от длительности менструального кровотечения

рецидивов АМК (чувствительность – 78,9%, специфичность – 63%). Результаты анализа зависимости рецидивов АМК от характера менструаций представлены в Таблице 19.

Таблица 19 – Характер менструаций женщин с АМК и ожирением

Показатель \ Группа	АМК рецидив		АМК впервые		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Умеренные	11	28,9	26	56,5	0,015
Обильные	27	71,1	20	43,5	0,015
Болезненные	18	47,4	19	41,3	0,661

Все женщины, как в первой, так и во второй группе, имели регулярный менструальный цикл, что объясняется критериями включения в настоящее исследование. Однако в группе рецидивов большинство пациенток отмечали обильные менструации, что значимо превышало аналогичный показатель у женщин с первым эпизодом АМК: среди них больше половины отмечали умеренные менструации ( $p < 0,05$ ).

Проведенный анализ показал, что у женщин с ожирением при обильных менструациях шанс возникновения рецидивов АМК увеличивался в 3,2 раза (ОШ=3,2; 95% ДИ: 1,3–7,9).

Учитывая данные субъективной оценки объема менструальной кровопотери, представлял интерес сравнительный анализ количества и объема средств гигиены, используемых во время менструации. При сравнении двух групп значимых различий в количестве используемых гигиенических средств за один цикл менструального кровотечения обнаружено не было, однако степень защиты гигиенических средств различалась и была значимо выше в группе пациенток с рецидивами АМК ( $p < 0,01$ ) (Таблица 20).

Таблица 20 – Сравнительный анализ количества и объема средств личной гигиены, используемых женщинами с АМК и ожирением

Показатель	Группа	АМК рецидив		АМК впервые		p
		Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	
Количество гигиенических средств в день		5	3-5	5	4-5	0,503
Степень защиты гигиенических средств		6	4-6	5	5-6	0,009

С помощью ROC-анализа была подтверждена зависимость возможного возникновения повторного эпизода АМК от степени защиты гигиенических средств, используемых пациенткой (Рисунок 9).

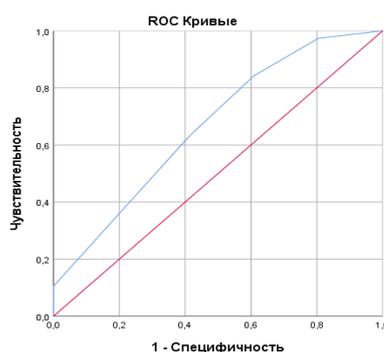


Рисунок 9 – ROC-кривая, характеризующая зависимость наступления рецидива АМК от степени защиты используемых гигиенических средств

Площадь под ROC-кривой составила  $0,667 \pm 0,06$  (95% ДИ: 0,6–0,8). Полученная модель была статистически значимой ( $p = 0,009$ ). При степени защиты

используемых средств гигиены  $\geq 6$  прогнозировался высокий риск рецидивов АМК (чувствительность – 63,2%, специфичность – 58,7%).

Структура заболеваний органов репродуктивной системы у женщин с АМК и ожирением в целом представлена на Рисунке 10.

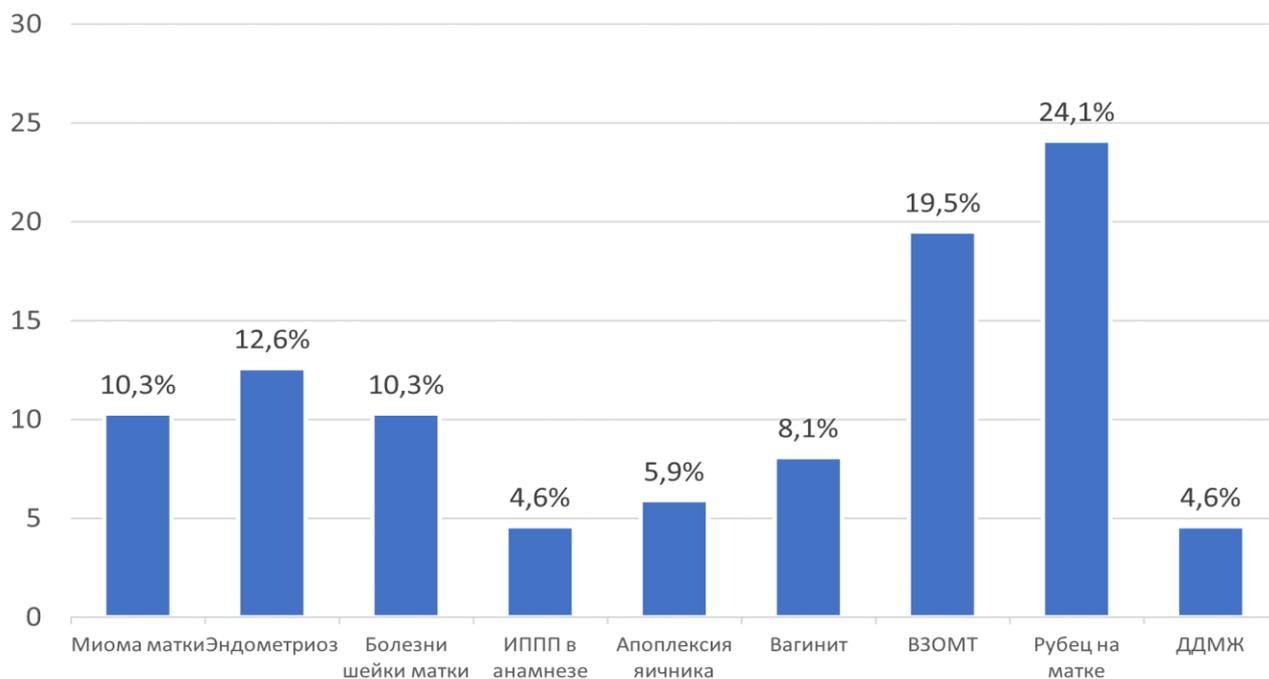


Рисунок 10 – Структура гинекологических заболеваний у женщин с АМК и ожирением

Как видно на диаграмме (Рисунок 10), лидирующее место в структуре гинекологических заболеваний занимает рубец на матке, на втором месте стоит ВЗОМТ, третье место занимает эндометриоз. Результаты анализа зависимости рецидивов АМК у женщин с ожирением от наличия заболеваний органов репродуктивной системы представлены в Таблице 21, откуда видно, что в группе рецидива значительно чаще, чем при первом эпизоде, встречались ВЗОМТ в анамнезе. Второе место по частоте в группе занимал рубец на матке, третье - миома матки. В то же время в группе первого эпизода АМК лидировал рубец на матке, второе место делили между собой ВЗОМТ в анамнезе, эндометриоз и болезни шейки матки, третье место – миома матки и вагиниты.

Таблица 21 – Зависимость рецидивов АМК у женщин с ожирением от наличия заболеваний органов репродуктивной системы

Показатель \ Группа	АМК рецидив		АМК впервые		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Миома матки	5	13,2	4	8,7	0,725
Эндометриоз	6	15,8	5	10,9	0,534
Болезни шейки матки	4	10,5	5	10,9	1,000
ИППП в анамнезе	3	7,9	1	2,2	0,324
Апоплексия яичника	3	6,0	2	2,7	0,654
Вагинит	3	7,9	4	8,7	1,000
ВЗОМТ	12	31,6	5	10,9	0,028
Рубец на матке	9	23,7	12	26,1	1,000
ДДМЖ	1	2,6	3	6,5	0,623

Установлено, что при наличии ВЗОМТ в анамнезе шанс возникновения рецидивов АМК у женщин с ожирением увеличивается в 3,8 раз (ОШ=3,8; 95% ДИ: 1,2–12), что позволяет рассматривать ВЗОМТ как один из факторов риска рецидивов АМК у женщин с ожирением.

Наличие беременности у женщин в анамнезе не оказывало влияние на возникновение рецидивов АМК ( $p=0,809$ ). В первой группе беременности в анамнезе регистрировали у 73,6% пациенток, во второй – у 69,6%. Однако в группе с рецидивами среднее количество беременностей было значимо меньше –  $1,55 \pm 0,2$  (95% ДИ: 1,1–2,03), тогда как во второй этот показатель составил  $2,26 \pm 0,3$  (95% ДИ: 1,61–2,91,  $p<0,001$ ).

С целью выявления факторов риска рецидивов АМК у женщин с ожирением были проанализированы исходы беременностей в сравниваемых группах (Таблица 22). Установлено, что беременности в обеих группах преимущественно заканчивались родами, второе место заняли аборт и третье – самопроизвольные выкидыши. Однако при межгрупповом сравнении доля рожавших пациенток в группе пациенток с рецидивами АМК оказалась значимо ниже ( $p<0,05$ ), в то время как доля неразвивающихся беременностей была значимо больше ( $p<0,05$ ).

Таблица 22 - Исходы беременностей среди пациенток с АМК и ожирением

Показатель \ Группа	АМК рецидив		АМК впервые		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Роды	19	50,0	33	71,7	0,046
С/выкидыш	7	18,4	10	21,7	0,789
Неразвивающаяся беременность	6	15,8	1	2,2	0,043
Внематочная беременность	2	5,3	1	2,2	0,587
Аборт	9	23,7	19	41,3	0,107

В итоге было установлено, что наличие родов в анамнезе снижает шансы возникновения рецидивов АМК у женщин с ожирением в 2,5 раза (ОШ=2,5; 95% ДИ: 1,1–6,3), тогда как наличие в анамнезе неразвивающейся беременности повышает их в 8,4 раза (ОШ=8,4; 95% ДИ: 1,0–73,5).

Сравнительный анализ способов прерывания неразвивающейся беременности в исследуемых группах статистической значимости не обнаружил, равно как при сравнении методов прерывания при аборте ( $p > 0,05$ ).

При УЗИ органов малого таза толщина М-эхо не имела значимых отличий между сравниваемыми группами ( $p = 0,62$ ), в первой группе медиана толщины М-эхо составляла 10 мм ( $Q_1$ – $Q_3$ : 7,5–12), во второй – 9 мм ( $Q_1$ – $Q_3$ : 6–12).

Таким образом, в результате исследования было установлено, что пациентки с ожирением и рецидивами АМК старше по возрасту ( $p < 0,01$ ). На риск рецидива АМК могут оказывать негативное влияние масса тела пациентки  $\geq 96,5$  кг (чувствительность – 60,5%, специфичность – 63%,  $p = 0,014$ ), ИМТ  $\geq 35,2$  кг/м<sup>2</sup> (чувствительность – 63,2%, специфичность – 60,9%,  $p = 0,014$ ), ОТ  $\geq 102,5$  см (чувствительность – 68,4%, специфичность – 67,4%,  $p = 0,002$ ) и индекс ОТ/ОБ  $\geq 0,99$  (чувствительность – 63,2%, специфичность – 58,7%,  $p = 0,032$ ).

Особо следует отметить выявленное у исследуемых лиц негативное влияние на рецидивы АМК факта курения на момент исследования, этот параметр увеличивал шансы рецидивов в 2,9 раз (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,1–7,6). Полученные данные корреспондировались с тем, что на риск рецидивов АМК у пациенток с

ожирением влияют ССЗ, наличие которых увеличивало шансы рецидивов без малого в 4 раза (ОШ=3,9; 95% ДИ: 1,6–10). Выявлено, что наличие гипертонической болезни при ожирении (ОШ=3,5; 95% ДИ: 1,3–9,4) увеличивает вероятность рецидивов АМК в 3,5 раза, а варикозное расширение вен нижних конечностей - в 3,8 раз (ОШ=3,8; 95% ДИ: 1,2–12). Отмечено, что при отсутствии значимой разницы в частоте анемии в целом между сравниваемыми группами, пациентки с рецидивами АМК значимо чаще имели анемию средней степени (выявлена у каждой пятой) при отсутствии таковой в группе первого эпизода ( $p < 0,05$ ).

В результате исследования также доказано, что длительные и обильные менструации у женщин, страдающих АМК и ожирением, являются анамнестическими факторами, негативно влияющими на шансы рецидивов АМК (ОШ=3,2; 95% ДИ: 1,3–7,9). В то же время, умеренный объем менструальной кровопотери демонстрирует обратную закономерность, что может означать снижение риска возникновения повторных эпизодов АМК. Несмотря на одинаковое количество средств гигиены, используемых во время менструации в обеих группах, степень их защиты была значимо выше в группе с рецидивами АМК ( $p = 0,009$ ). Степень защиты  $\geq 6$  отрицательно влияла на риск рецидивов АМК (чувствительность – 63,2%, специфичность – 58,7%,  $p < 0,001$ ).

В отношении заболеваний органов репродуктивной системы доказано, что негативный эффект относительно рецидивов АМК оказывают ВЗОМТ в анамнезе (ОШ=3,8; 95% ДИ: 1,2–12).

Анализ акушерского анамнеза позволил установить, что, несмотря на отсутствие значимых различий ( $p > 0,05$ ) по числу беременностей в анамнезе в целом, количество их в анамнезе пациенток с рецидивами АМК было значимо ниже ( $p < 0,001$ ). В свою очередь наличие родов снижало риск развития АМК у женщин с ожирением (ОШ=2,5; 95% ДИ: 1,1–6,3), в то время как неразвивающаяся беременность в анамнезе его увеличивала (ОШ=8,4; 95% ДИ: 1,0–73,5).

Сравнительный статистический анализ позволил подытожить предыдущие этапы исследования и выявить клинико-анамнестические факторы риска рецидивов АМК у женщин в репродуктивном возрасте с ожирением (Рисунок 11).

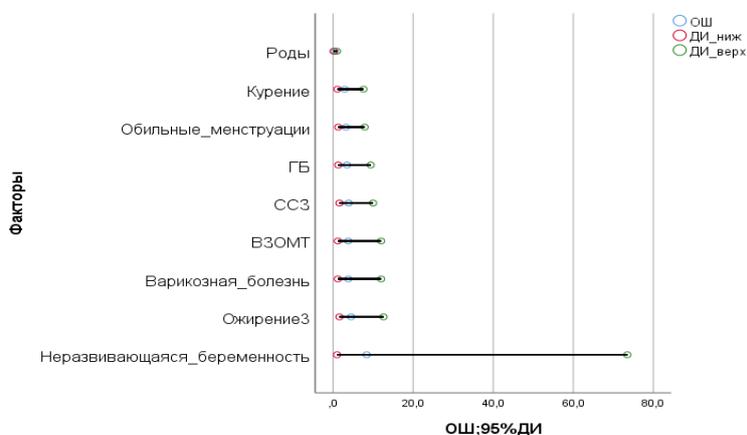


Рисунок 11 – Диаграмма форест-плот, отражающая ОШ с 95% ДИ, для клинико-анамнестических факторов риска рецидивов АМК

Таким образом, клинико-анамнестическими факторами риска рецидивов АМК у женщин с ожирением в репродуктивном возрасте следует считать ( $p < 0,05$ ): курение, масса тела  $\geq 96,5$  кг, ИМТ  $\geq 35,2$  кг/м<sup>2</sup>, ОТ  $\geq 102,5$  см, значение индекса ОТ/ОБ  $\geq 0,88$ , ожирение 3 степени, ССЗ, в том числе, ГБ и варикозное расширение вен нижних конечностей, длительность менструаций  $\geq 6$  дней и обильное менструальное кровотечение, степень защиты гигиенических средств  $\geq 6$ , ВЗОМТ в анамнезе, отсутствие родов, неразвивающаяся беременность в анамнезе.

## ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЙ

### 4.1 Результаты лабораторного исследования

В ходе анализа результатов лабораторных методов исследования было выявлено достоверное различие уровня гемоглобина между пациентками с АМК и ожирением и нормовесными. (Таблица 23). Остальные параметры клинического анализа крови между сравниваемыми группами значимо не различались ( $p > 0,05$ ). Медиана значений основных параметров находились в пределах референсных значений. Оценка показателей биохимического анализа крови выявила значимые различия уровня глюкозы крови натощак между сравниваемыми группами (Таблица 23). Другие параметры биохимического анализа крови (общий белок, креатинин, АЛТ, АСТ, общий билирубин, мочевины), а также показатели гемостазиограммы (АЧТВ, МНО, фибриноген, протромбиновое время, протромбиновый индекс) и микроскопического исследования влагалищного отделяемого в исследуемых группах не имели значимых различий ( $p > 0,05$ ).

Таблица 23 – Уровень гемоглобина и глюкозы плазмы крови натощак в исследуемых группах

Показатель \ Группа	АМК+ожирение		АМК+нормовесные		p
	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	
Уровень гемоглобина, г/л	121	110,5-125	124	120-133	0,004
Уровень глюкозы крови натощак, ммоль/л	5,8	5,3-6,8	5,5	5,2-5,9	0,008

Полученные результаты демонстрируют, что уровень гемоглобина у женщин с АМК и ожирением при нахождении в стационаре оказался значимо ниже в сравнении с нормовесными ( $p < 0,01$ ), в то время как уровень глюкозы плазмы крови - значимо выше ( $p < 0,01$ ).

Однако впоследствии было установлено, что ни уровень гемоглобина, ни уровень глюкозы плазмы крови натощак не оказывают влияние на риск развития рецидивов АМК у женщин с ожирением. Так, медиана уровня гемоглобина в группе с рецидивирующим течением АМК составляла 121 г/л ( $Q_1-Q_3$ : 111–127), в группе с впервые выявленным эпизодом АМК - 123 г/л ( $Q_1-Q_3$ : 111–127,  $p=0,45$ ). Медиана уровня глюкозы плазмы крови натощак у женщин с рецидивами АМК в анамнезе составила 5,5 ммоль/л ( $Q_1-Q_3$ : 5,2–6,5), в группе с первым эпизодом - 5,6 ммоль/л ( $Q_1-Q_3$ : 5,3–6,5) ( $p=0,794$ ).

#### **4.2 Результаты молекулярно-генетического тестирования обследованных пациенток на носительство полиморфизмов генов *eNOS*, *VEGF-A*, *HIF1 $\alpha$* , *IL6*, *ESR1*, *PPAR-G***

В ходе исследования встречаемости генотипов, участвующих в ангиогенезе, гена эндотелиальной синтазы оксида азота *eNOS T786C*, гена сосудистого эндотелиального фактора роста *VEGF-A C2578A*, гена фактора, индуцируемого гипоксией – 1 альфа *HIF-1 $\alpha$  C1772T*, участвующего в инициации воспалительных процессов гена интерлейкина - 6 *IL6 C174G*, провоспалительного цитокина между группами пациенток с АМК и женщин контрольной группы были обнаружены статистически значимые различия ( $p<0,05$ ). Вместе с тем при исследовании встречаемости генотипов гена сосудистого эндотелиального фактора роста *VEGF-A G-634C*, гена рецептора эстрогена 1 альфа *ESR1 G/A* и гена рецептора, активируемого пероксисомным пролифератором гамма *PPAR-G G482A*, значимых отличий между сравниваемыми группами выявлено не было ( $p>0,05$ ).

Полиморфные варианты генов *eNOS* и *VEGF-A* могут приводить к патологической активации ангиогенеза и выраженной вазодилатации за счет нарушения работы основных белков, за функцию которых отвечают данные генетические изменения, в том числе и в эндометрии. Установлено, что значимые различия между исследуемыми группами наблюдаются по генотипу *TC* по *eNOS*

*T786C*, который в группе пациенток с АМК и ожирением встречался чаще в сравнении с нормовесными и контрольной группой ( $p < 0,05$ ) (Таблица 24).

Таблица 24 – Встречаемость генотипов гена *eNOS T786C* у обследованных пациенток

Ген	Группа	Генотип и аллели	АМК + ожирение		АМК нормовесные		Контроль		p
			Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
			<i>eNOS</i>	<i>TT</i>	20	23,8	29	38,7	
	<i>TC</i>	56	66,7	37	49,3	29	49,1	0,044 $p_{1-2}=0,036$ $p_{1-3}=0,04$ $p_{2-3}=1,000$	
	<i>CC</i>	8	9,5	9	12,0	9	15,3	0,584 $p_{1-2}=0,620$ $p_{1-3}=0,432$ $p_{2-3}=0,617$	
	<i>T</i>	96	57,1	95	63,3	71	60,2	0,494 $p_{1-2}=0,302$	
	<i>C</i>	72	42,9	55	36,7	47	39,8	$p_{1-3}=0,628$ $p_{2-3}=0,614$	

Проведенный анализ показал, что носительство генотипа *TC* увеличивает шансы развития АМК при ожирении практически в 2 раза по сравнению с группой генетического контроля (ОШ=1,8; 95% ДИ: 0,9–3,7).

При оценке встречаемости полиморфных вариантов гена *VEGF-A C2578A* в сравниваемых группах было установлено, что у женщин с АМК по сравнению с контрольной группой гетерозиготный генотип *CA* встречается значимо чаще ( $p=0,001$ ). В то же время отмечено, что генотип *AA* и патологический аллель *A*

встречался значительно чаще в контрольной группе в сравнении с основной ( $p < 0,001$ ) (Таблица 25).

Таблица 25 – Встречаемость генотипов гена *VEGF-A C2578A* у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК + ожирение		АМК нормовесные		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>VEGF-A</i>	<i>CC</i>	28	33,3	17	22,7	14	23,7	0,272 $p_{1-2}=0,16$ $p_{1-3}=0,264$ $p_{2-3}=1,000$
	<i>CA</i>	39	46,4	39	52,0	13	22,1	0,001 $p_{1-2}=0,527$ $p_{1-3}=0,004$ $p_{2-3}=0,001$
	<i>AA</i>	17	20,1	19	25,3	32	54,2	<0,001 $p_{1-2}=0,455$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=0,001$
	<i>C</i>	95	56,5	73	48,7	41	34,7	0,001 $p_{1-2}=0,178$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=0,025$
	<i>A</i>	73	43,5	77	51,3	77	65,3	

При наличии генотипа *CA* риск развития АМК у пациенток с ожирением увеличивается в 3,1 раза (ОШ=3,1; 95% ДИ: 1,4–6,5), у нормовесных - в 3,8 раз (ОШ=3,8; 95% ДИ: 1,8–8,2) в сравнении с группой генетического контроля. Напротив, носительство генотипа *AA* снижает риск развития АМК и у женщин с ожирением (ОШ=4,7; 95% ДИ: 2,3–9,8), и у нормовесных (ОШ=3,5; 95% ДИ: 1,7–7,3).

Однако при оценке частоты встречаемости полиморфных вариантов гена *VEGF-A G-634C* несмотря на большее число случаев с гетерозиготным генотипом *GC* в группе пациенток с АМК и ожирением в сравнении с нормовесными и контрольной группой (47,6% против 41,3% и 30,5% соответственно), статистически значимых различий выявлено не было. В свою очередь патологический аллель *C* был зарегистрирован в большем проценте случаев в группе пациенток с ожирением

(32,1% против 26,0% у нормовесных и 25,5% у контрольной группы) (Таблица 26).

Таблица 26 – Встречаемость генотипов гена *VEGF-A G-634C* у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК+ожирение		АМК нормовесные		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>VEGF-A</i>	<i>GG</i>	37	44,1	40	53,3	35	59,3	0,193 p <sub>1-2</sub> =0,268 p <sub>1-3</sub> =0,09 p <sub>2-3</sub> =0,599
	<i>GC</i>	40	47,6	31	41,3	18	30,5	0,123 p <sub>1-2</sub> =0,523 p <sub>1-3</sub> =0,057 p <sub>2-3</sub> =0,211
	<i>CC</i>	7	8,3	4	5,4	6	10,2	0,563 p <sub>1-2</sub> =0,542 p <sub>1-3</sub> =0,772 p <sub>2-3</sub> =0,335
	<i>G</i>	114	67,9	111	74,0	88	74,6	0,001 p <sub>1-2</sub> =0,001
	<i>C</i>	54	32,1	39	26,0	30	25,4	p <sub>1-3</sub> =0,003 p <sub>2-3</sub> =1,000

При внутригрупповом сравнении в группе пациенток с АМК и ожирением чаще ( $p < 0,01$ ) встречается гетерозиготный генотип *GC* (47,6%, гомозиготный *CC* - 8,3%) по полиморфному локусу *VEGF-A G-634C*.

Одним из основных механизмов остановки менструального кровотечения является временная гипоксия в перименструальную фазу. Полиморфные варианты гена *HIF-1a*, вероятно, могут формировать дефект гипоксической реакции за счет изменения концентрации белка *HIF-1a* и/или нарушения его функциональных свойств, и приводить к нарушению восстановления эндометрия. В нашем исследовании значимые различия были отмечены в частоте гетерозиготного генотипа между группой с ожирением и нормовесными ( $p = 0,002$ ), с группой генетического контроля значимых различий не выявлено ( $p = 1,000$ ). Также установлены различия в частоте нормального генотипа *CC*, который

регистрировался значительно чаще в группе нормовесных с АМК (92,0% против 77,4% у пациенток с ожирением и 76,3% в контрольной группе) (Таблица 27).

Таблица 27 – Встречаемость генотипов гена *HIF1a C1772T* у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК+ожирение		АМК нормовесные		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>HIF-1a</i>	<i>CC</i>	65	77,4	69	92,0	45	76,3	0,023 p <sub>1-2</sub> =0,015 p <sub>1-3</sub> =1,000 p <sub>2-3</sub> =0,014
	<i>CT</i>	17	20,2	5	6,7	12	20,3	0,031 p <sub>1-2</sub> =0,002 p <sub>1-3</sub> =1,000 p <sub>2-3</sub> =0,021
	<i>TT</i>	2	2,4	1	1,3	2	3,4	0,854 p <sub>1-2</sub> =1,000 p <sub>1-3</sub> =1,000 p <sub>2-3</sub> =0,582
	<i>C</i>	147	87,5	143	95,3	102	86,4	0,022 p <sub>1-2</sub> =0,017
	<i>T</i>	21	12,5	7	4,7	16	13,6	p <sub>1-3</sub> =0,859 p <sub>2-3</sub> =0,014

Воспалительная реакция также присутствует в перименструальную фазу и нарушение регуляции данного процесса может приводить к замедленной регенерации эндометрия. Носительство полиморфных вариантов гена *IL6 C174G* могут приводить к несвоевременному разрешению воспалительных процессов и формировать чрезмерный воспалительный ответ в ткани эндометрия как системно, так и локально. В настоящем исследовании получены противоречивые результаты в частоте встречаемости гомозиготного генотипа *GG*, который значительно чаще встречался в группе генетического контроля в сравнении с двумя основными, в то время как нормальный гомозиготный генотип *CC* определялся значительно чаще в основной группе (p<0,001). Аналогичные результаты были отмечены при оценке встречаемости патологического аллеля *G*, частота которого преобладала в

контрольной группе ( $p < 0,001$ ) (Таблица 28).

Таблица 28 – Встречаемость генотипов гена *IL6 C174G* у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК+ожирение		АМК нормовесные		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>IL6</i>	<i>CC</i>	59	70,2	53	70,7	18	30,5	<0,001 $p_{1-2}=1,000$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,001$
	<i>CG</i>	22	26,2	19	25,3	22	37,3	0,262 $p_{1-2}=1,000$ $p_{1-3}=0,198$ $p_{2-3}=0,186$
	<i>GG</i>	3	3,6	3	4,0	19	32,2	<0,001 $p_{1-2}=1,000$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,001$
	<i>C</i>	140	88,4	125	87,9	58	49,2	$p < 0,001$ $p_{1-2}=1,000$
	<i>G</i>	28	11,6	25	12,1	60	50,8	$p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,001$

Гормональная регуляция не менее важна для своевременной остановки менструального кровотечения. Носительство полиморфных вариантов гена *ESR1 G/A* может приводить к дефекту рецепторного аппарата и нарушению гормональной регуляции, однако в ходе нашего исследования не выявлены особенности в частоте генотипов *GG*, *GA*, *AA* и аллелей гена *ESR1 G/A* у женщин с АМК и ожирением. Наибольшие различия отмечались по генотипу *GA*, который в большем проценте случаев присутствовал в контрольной группе. При внутригрупповом сравнении у пациенток с АМК и ожирением генотип *GA* определяется у 26,2%, генотип *AA* – 5,9% ( $p < 0,01$ ) (Таблица 29).

Таблица 29 – Встречаемость генотипов гена *ESR1* G/A у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК+ожирение		АМК нормовесные		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>ESR1</i>	<i>GG</i>	57	67,9	55	73,3	37	62,7	p=0,428 p <sub>1-2</sub> =0,49 p <sub>1-3</sub> =0,592 p <sub>2-3</sub> =0,196
	<i>GA</i>	22	26,2	18	24,0	22	37,3	p=0,214 p <sub>1-2</sub> =0,855 p <sub>1-3</sub> =0,198 p <sub>2-3</sub> =0,128
	<i>AA</i>	5	5,9	2	2,7	0	0	p=0,154 p <sub>1-2</sub> =0,448 p <sub>1-3</sub> =0,077 p <sub>2-3</sub> =0,503
	<i>G</i>	136	81	128	85,3	96	81,3	p=0,542 p <sub>1-2</sub> =0,37
	<i>A</i>	32	19	22	14,7	22	18,7	p <sub>1-3</sub> =1,000 p <sub>2-3</sub> =0,409

При оценке встречаемости генотипов и аллелей гена *PPAR-G* G482A между сравниваемыми группами также не было выявлено статистически значимой разницы. При этом генотип *AA* преимущественно встречался у женщин основных групп. В группе женщин с АМК и ожирением по полиморфизму гена *PPAR-G* G482A преимущественно встречался генотип *GA* ( $p < 0,01$ ) (Таблица 30).

Таблица 30 – Встречаемость генотипов гена *PPAR-G* G482A у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК+ожирение		АМК нормовесные		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>PPAR-G</i>	<i>GG</i>	38	45,2	26	34,7	31	52,5	0,109
	<i>GA</i>	31	36,9	36	48,0	24	40,7	0,371
	<i>AA</i>	15	17,9	13	17,3	4	6,8	0,144
	<i>G</i>	107	63,7	88	58,7	86	72,9	0,05
	<i>A</i>	61	36,3	62	41,3	32	27,1	

С целью определения роли носительства полиморфных вариантов генов *eNOS T786C* [rs2070744], *VEGF-A C2578A* [rs699947], *VEGF-A G-634C*, [rs2010963], *HIF1a C1772T* [rs11549465], *IL6 C174G* [rs1800795], *ESR1 G/A* [rs2228480] и *PPAR-G G482A*, [rs8192678] в реализации рецидивов АМК у женщин с ожирением, была проведена сравнительная оценка их встречаемости в группе женщин с рецидивами АМК в анамнезе (n=38) и в группе женщин с впервые возникшим эпизодом АМК (n=46).

Группу контроля составили женщины репродуктивного возраста без АМК в анамнезе. В Таблице 31 представлена встречаемость генотипов и аллелей гена *eNOS T786C*, которая демонстрирует, что для женщин с рецидивами АМК более характерен генотип *TC* ( $p < 0,05$ ).

Таблица 31 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *eNOS T786C* у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК рецидив		АМК впервые		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>eNOS</i>	<i>TT</i>	6	15,8	14	30,4	21	35,6	0,103 p <sub>1-2</sub> =0,132 p <sub>1-3</sub> =0,039 p <sub>2-3</sub> =0,678
	<i>TC</i>	30	78,9	26	56,5	29	49,1	0,012 p <sub>1-2</sub> =0,038 p <sub>1-3</sub> =0,005 p <sub>2-3</sub> =0,555
	<i>CC</i>	2	5,3	6	13,1	9	15,3	0,315 p <sub>1-2</sub> =0,284 p <sub>1-3</sub> =0,192 p <sub>2-3</sub> =0,787
	<i>T</i>	32	48,5	54	58,7	71	60,2	0,202 p <sub>1-2</sub> =0,153 p <sub>1-3</sub> =0,094 p <sub>2-3</sub> =0,888
	<i>C</i>	34	51,5	38	41,3	47	39,8	

Установлено, что носительство генотипа *TC* увеличивает шансы развития рецидивов АМК при ожирении в 2,9 раз по сравнению с нормовесными (ОШ=2,9;

95% ДИ: 1,1–7,6) и в 3,9 раза - по сравнению с группой контроля (ОШ=3,9; 95% ДИ: 1,5–9,9).

В свою очередь, при оценке встречаемости генотипов гена *VEGF-A C2578A* в сравниваемых группах было установлено, что у женщин с рецидивами АМК по сравнению с группой с впервые возникшим эпизодом и контрольной группой гетерозиготный генотип *CA* встречается значительно чаще ( $p < 0,03$ ) (Таблица 32).

Таблица 32 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *VEGF-A C2578A* у обследованных пациенток

Группа Ген	Генотип и аллели	АМК рецидив		АМК впервые		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>VEGF-A</i>	<i>CC</i>	9	23,6	19	41,3	14	23,7	0,1 $p_{1-2}=0,107$ $p_{1-3}=1,000$ $p_{2-3}=0,06$
	<i>CA</i>	23	60,6	16	34,8	13	22,1	0,001 $p_{1-2}=0,028$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=0,188$
	<i>AA</i>	6	15,8	11	23,9	32	54,2	<0,001 $p_{1-2}=0,421$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=0,003$
	<i>C</i>	41	53,9	54	58,7	41	34,7	<0,001 $p_{1-2}=1,000$ $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}<0,001$
	<i>A</i>	35	46,1	38	41,3	77	65,3	

Проведенный анализ показал, что при наличии носительства генотипа *CA* шанс развития рецидива АМК у пациенток выше в 2,9 раза (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,2–7,0), чем у женщин с впервые возникшим эпизодом, и в 5,4 раза выше, чем в группе контроля (ОШ=5,4; 95%: 2,2–13,3). В то же время, при сравнении частоты встречаемости полиморфных вариантов генов *HIF1a C1772T*, было выявлено, что генотип *CC* значительно чаще встречался в когорте пациенток с повторным эпизодом АМК, чем у женщин с впервые возникшим эпизодом ( $p=0,019$ ), однако различий с

контрольной группой (Таблица 33) зарегистрировано не было ( $p=0,117$ ). Как видно из данных, представленных в Таблице 33, генотип *CT* в группе с рецидивами АМК встречался значимо реже по сравнению с группой с впервые возникшим эпизодом АМК ( $p=0,014$ ) (Таблица 33).

Таблица 33 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *HIF1a C1772T* у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК рецидив		АМК впервые		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>HIF1a</i>	<i>CC</i>	34	89,5	31	67,4	45	76,3	0,049 $p_{1-2}=0,019$ $p_{1-3}=0,117$ $p_{2-3}=0,381$
	<i>CT</i>	3	7,9	14	30,4	12	20,3	0,035 $p_{1-2}=0,014$ $p_{1-3}=0,15$ $p_{2-3}=0,261$
	<i>TT</i>	1	2,6	1	2,2	2	3,4	1,000 $p_{1-2}=1,000$ $p_{1-3}=1,000$ $p_{2-3}=0,582$
	<i>C</i>	71	93,4	76	82,6	102	86,4	0,11 $p_{1-2}=0,059$
	<i>T</i>	5	6,6	16	17,4	16	13,6	$p_{1-3}=0,158$ $p_{2-3}=0,562$

Согласно результатам проведенного анализа встречаемости полиморфизма гена *IL6 C174G* (Таблица 34), у женщин с рецидивами АМК отмечено значимо большее число случаев носительства генотипа *CC* по сравнению с группой контроля ( $p<0,001$ ). В то же время у последних генотип *GG* встречался значимо чаще ( $p<0,001$ ). Между группами с ожирением, независимо от наличия рецидивов,

значимых отличий в частоте встречаемости полиморфных вариантов гена *IL6 C174G* обнаружено не было ( $p>0,05$ ).

Таблица 34 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *IL6 C174G* у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК рецидив		АМК впервые		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>IL6</i>	<i>CC</i>	28	73,7	31	67,4	18	30,5	<0,001 $p_{1-2}=0,634$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,001$
	<i>CG</i>	9	23,7	13	28,3	22	37,3	0,361 $p_{1-2}=0,804$ $p_{1-3}=0,186$ $p_{2-3}=0,406$
	<i>GG</i>	1	2,6	2	4,3	19	32,2	<0,001 $p_{1-2}=1,000$ $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}<0,001$
	<i>C</i>	65	85,5	75	81,5	58	54,2	<0,001 $p_{1-2}=0,538$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,001$
	<i>G</i>	11	14,5	17	18,5	49	45,8	$p_{1-2}=0,538$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,001$

При сравнительной оценке встречаемости полиморфных вариантов гена *VEGF-A G-634C* между пациентками с повторным эпизодом АМК и женщинами с впервые возникшим эпизодом АМК значимых отличий не выявлено ( $p>0,05$ ) (Таблица 35).

При оценке частоты встречаемости генотипов гена *ESTR1 G/A* было отмечено, что носительство генотипа *GG* чаще встречалось у женщин с рецидивирующим характером течения АМК, однако значимых отличий обнаружено не было (Таблица 36).

При оценке встречаемости генотипов гена *PPAR-G G482A* между сравниваемыми группами также не было выявлено статистически значимых различий. Наибольшие отличия были отмечены по параметру *AA*, которое встречалось чаще в группе АМК рецидив (Таблица 37).

Таблица 35 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *VEGF-A G-634C* у обследованных пациенток

Группа Ген	Генотип и аллели	АМК рецидив		АМК впервые		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>VEGF-A</i>	<i>GG</i>	19	50,0	18	39,1	35	59,3	0,193 p <sub>1-2</sub> =0,38 p <sub>1-3</sub> =0,09 p <sub>2-3</sub> =0,599
	<i>GC</i>	15	39,5	25	54,4	18	30,5	0,123 p <sub>1-2</sub> =0,195 p <sub>1-3</sub> =0,057 p <sub>2-3</sub> =0,211
	<i>CC</i>	4	10,5	3	6,5	6	10,2	0,563 p <sub>1-2</sub> =0,696 p <sub>1-3</sub> =0,772 p <sub>2-3</sub> =0,335
	<i>G</i>	53	69,7	61	66,3	88	74,6	0,421 p <sub>1-2</sub> =0,74 p <sub>1-3</sub> =0,51 p <sub>2-3</sub> =0,221
	<i>C</i>	23	30,3	31	33,7	30	25,4	

Таблица 36 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *ESR1 G/A* у обследованных пациенток

Группа Ген	Генотип и аллели	АМК рецидив		АМК впервые		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>ESR1</i>	<i>GG</i>	27	71,1	30	65,2	37	62,7	0,428 p <sub>1-2</sub> =0,643 p <sub>1-3</sub> =0,592 p <sub>2-3</sub> =0,196
	<i>GA</i>	7	18,4	15	32,6	22	37,3	0,214 p <sub>1-2</sub> =0,212 p <sub>1-3</sub> =0,198 p <sub>2-3</sub> =0,128
	<i>AA</i>	4	10,5	1	2,2	0	0	0,154 p <sub>1-2</sub> =0,171 p <sub>1-3</sub> =0,077 p <sub>2-3</sub> =0,503
	<i>G</i>	61	73,5	75	81,5	96	89,7	0,331 p <sub>1-2</sub> =0,21 p <sub>1-3</sub> =0,226 p <sub>2-3</sub> =1,000
	<i>A</i>	22	26,5	17	18,5	11	10,3	

Таблица 37 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *PPAR-G G482A* у обследованных пациенток

Ген \ Группа	Генотип и аллели	АМК рецидив		АМК впервые		Контроль		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
<i>PPAR-G</i>	<i>GG</i>	17	44,7	21	45,7	31	52,5	0,109
	<i>GA</i>	14	36,9	17	37,0	24	40,7	0,371
	<i>AA</i>	7	18,4	8	17,3	4	6,8	0,144
	<i>G</i>	48	63,2	59	64,1	86	72,9	0,268
	<i>A</i>	28	36,8	33	35,9	32	27,1	

Таким образом, полученные результаты подтверждают гипотезу настоящего исследования о возможной генетической детерминированности патогенеза АМК и их рецидивов у женщин с ожирением в репродуктивном возрасте, что объясняется взаимосвязью риска рецидивов АМК у женщин с ожирением и носительства полиморфных вариантов генов *eNOS T786C* и *VEGF-A C2578A*, играющих роль в патологической активации неоангиогенеза и возможном формировании в ткани эндометрия дефекта гипоксического ответа на фоне присутствующего ожирения.

## ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЙ БИОПТАТОВ ЭНДОМЕТРИЯ

### 5.1 Результаты гистологического исследования биоптатов эндометрия у женщин с АМК

С целью выявления патоморфологических особенностей в ходе исследования всем пациенткам основной группы с АМК было выполнено рутинное патоморфологическое исследование биоптатов эндометрия. Забор биоптата эндометрия у женщин основной группы осуществлялся непосредственно в период эпизода АМК. Результаты гистологического заключения биоптатов эндометрия представлены на Рисунке 12.

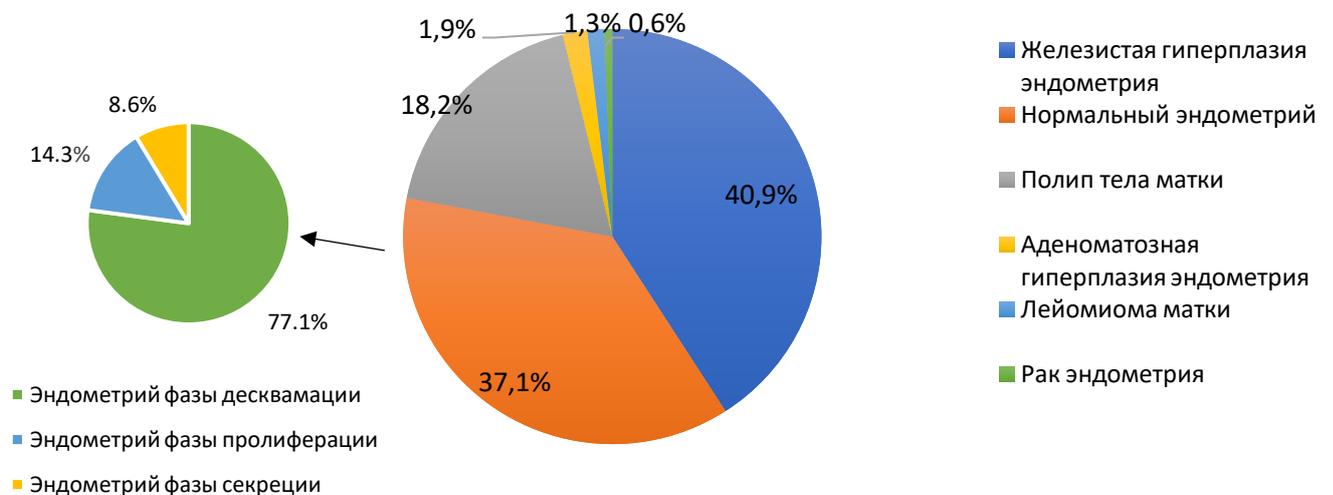


Рисунок 12 – Результаты гистологического исследования биоптатов эндометрия  
у женщин с АМК

Как видно из Рисунка 12 лидирующее место в структуре причин АМК у женщин исследуемых групп занимает железистая гиперплазия эндометрия. На втором месте располагается нормальная структура эндометрия, в котором по результатам гистологического исследования в большем проценте случаев

встречается эндометрий фазы десквамации. Третье место по частоте в структуре причин АМК занимает полип тела матки.

С целью выявления патоморфологических особенностей эндометрия пациенток с АМК и ожирением нами было проведено сравнение вариантов гистологического заключения между пациентками с АМК и ожирением и нормовесными с АМК, по результатам которого были получены статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) (Таблица 38). Установлено, что у пациенток с АМК и ожирением значимо чаще ( $p = 0,026$ ) встречалась нормальная структура эндометрия (41,7% против 32,0%) и превалировала картина эндометрия фазы десквамации по результатам гистологического заключения. В группе пациенток с нормальной массой тела значимо чаще регистрировали полип тела матки ( $p = 0,013$ ). Удивительно, но несмотря на то, что ожирение рассматривается как фактор риска гиперплазии и рака эндометрия, в настоящем исследовании значимых различий в частоте встречаемости данных патологий между сравниваемыми группами обнаружено не было ( $p > 0,05$ ).

Таблица 38 – Варианты патоморфологического заключения биоптатов эндометрия у пациенток с АМК

Группа	АМК+ожирение		АМК нормовесные		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Гистологическое заключение					
Железистая гиперплазия эндометрия	37	44,0	28	37,3	0,422
Полип тела матки	9	10,7	20	26,7	0,013
Аденоматозная гиперплазия эндометрия	2	2,4	1	1,3	1,000
Лейомиома	1	1,2	1	1,3	1,000
Рак эндометрия	0	0	1	1,3	0,472
Эндометрий фазы десквамации	27	32,1	12	16,0	0,026
Эндометрий фазы пролиферации	5	6,0	8	10,7	0,386
Эндометрий фазы секреции	3	3,6	4	5,3	0,708

## 5.2 Морфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия у пациенток с АМК-Е и ожирением

В ходе настоящего исследования была проведена оценка нормальной структуры эндометрия в зависимости от фазы менструального цикла по результатам гистологического исследования в исследуемых группах. Пациентки в группе с АМК и ожирением имели в большем проценте случаев фазу десквамации, тогда так данная фаза регистрировалась в половине процентов случаев у нормовесных, а у женщин контрольной группе вовсе отсутствовала. Проллиферативная фаза регистрировалась в 90,0% случаев в группе морфологического контроля, в 35,0% у женщин с нормальным весом и в 25,0% у женщин с ожирением, в то время как секреторная фаза регистрировалась в 5,0% случаев в группе с ожирением, в 15,0% - в группе нормовесных и в 10,0% - в группе морфологического контроля (Таблица 39).

Таблица 39 – Встречаемость фаз менструального цикла в исследуемых группах

Группа	АМК+ ожирение		АМК нормовесные		Контрольная группа		p
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Гистологическое заключение							
Эндометрий фазы десквамации	14	70	10	50	0	0	p <sub>1-2</sub> =0,333 p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> =0,011
Эндометрий фазы пролиферации	5	25	7	35	9	90	p <sub>1-2</sub> =0,731 p <sub>1-3</sub> =0,001 p <sub>2-3</sub> =0,007
Эндометрий фазы секреции	1	5	3	15	1	10	p <sub>1-2</sub> =0,605 p <sub>1-3</sub> =1,000 p <sub>2-3</sub> =1,000

Просмотр гистологических микропрепаратов показал, что эндометрий в исследованном материале представлен небольшими фрагментами неправильной формы, характеризующийся как эндометрий пролиферативного типа с наличием мелких и средних размеров желез округлой или овоидной формы с базально и

многорядно расположенными гиперхромными ядрами. Строма фрагментов эндометрия представлена фибробластами с не дифференцируемым ободком цитоплазмы, гиперхромными овоидными ядрами, компактным или разрозненным расположением в зависимости от отсутствия или наличия, а также выраженности отека стромального компонента и размера кровоизлияний (мелкоочаговых, крупноочаговых) (Рисунок 13).

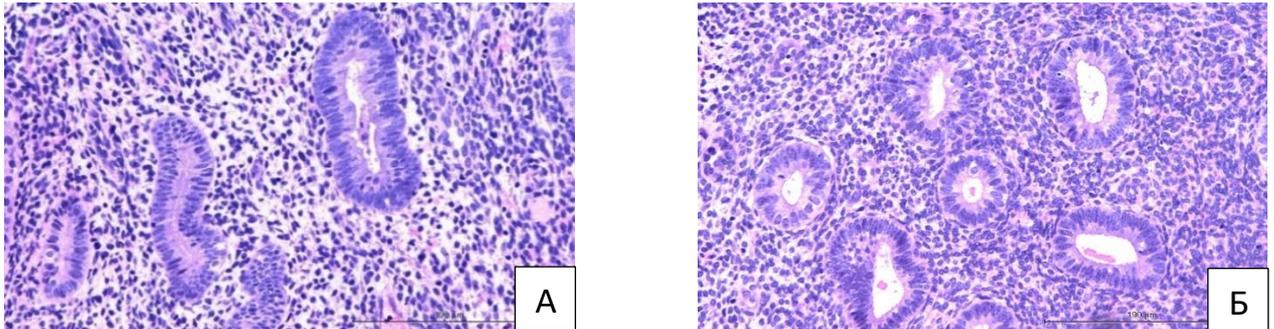


Рисунок 13 – Эндометрий пациенток с АМК-Е, представлен пролиферативной фазой (А, Б), окраска гематоксилином и эозином x200

Примечание – А - железы овоидной формы с митотической активностью, базальным расположением гиперхромных вытянутых ядер и ложной многорядностью, цитоплазма скудная с ровным апикальным краем. Строма со слабо выраженным диффузным отеком, мелкоочаговыми кровоизлияниями, представлена фибробластами с тонким ободком цитоплазмы и гиперхромными ядрами; Б- железы тубулярного строения с митотической активностью, базальным расположением гиперхромных округлых ядер, визуализацией ядрышек в части ядер, очаговой ложной многорядностью. Цитогенная строма компактная, представлена фибробластами с тонким ободком цитоплазмы и гиперхромными ядрами

В эндометрии с десквамативной фазой среди крови, фибрина и частиц некротизированной бесструктурной ткани определялись небольшие фрагменты эндометрия с коллабированной стромой и наличием фокусов фибриноидного некроза, железы с узкими просветами, извитой формы, представленные цилиндрическим эпителием с базально расположенными ядрами и ложной многорядностью, встречаются фрагменты эндометрия с компактной, фиброзированной цитогенной стромой и узкими железами, вытянутой и слегка извитой формы, построенными из цилиндрического эпителия, с преимущественно базально расположенными ядрами (Рисунок 14).

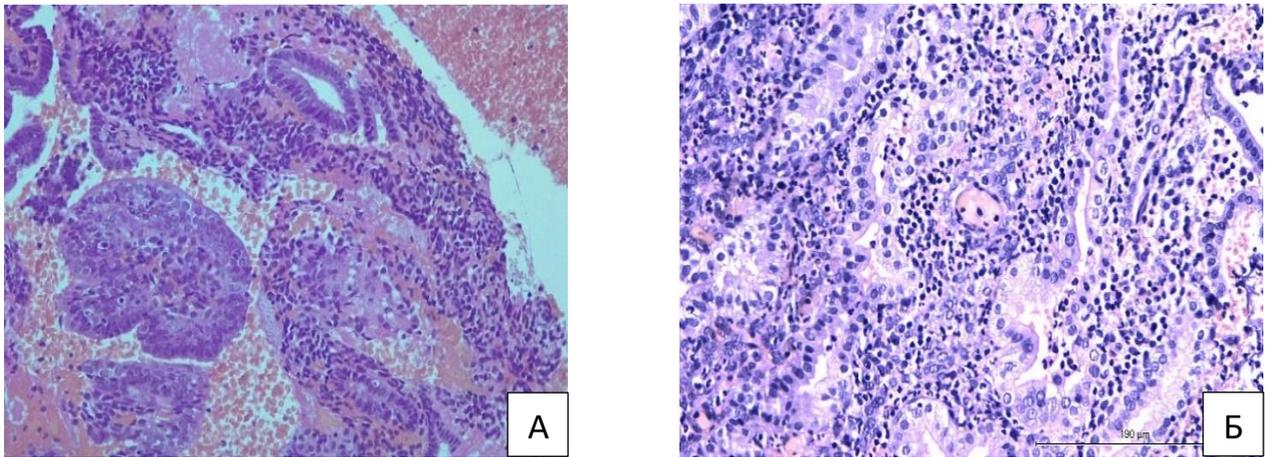


Рисунок 14 – Эндометрий пациенток с АМК-Е, представлен фазой десквамации (А, Б), окраска гематоксилином и эозином x200

Примечание – А- среди масс крови определяются мелкие фрагменты пролиферативного эндометрия с единичными сохраненными железами извитого строения, в строме очаговый отек, множественные кровоизлияния, выпадение нитей фибрина; Б - фрагменты секреторноподобного эндометрия с выраженными дистрофическими изменениями извитых желез со светлыми пузырьковидными и пикнотически измененными ядрами, высоким призматическим эпителием. Цитогенная строма со слабо выраженным отеком, множественными мелкоочаговыми кровоизлияниями, диффузной выраженной круглоклеточной инфильтрация и примесью скудного количества нейтрофильных лейкоцитов. Капиллярное русло с застойным полнокровием

Одним из основных способов восстановления поврежденного эндометрия является процесс своевременной регенерации. В связи с этим впервые была изучена экспрессия пролиферативного маркера ARID1a в эндометрии пациенток исследуемых групп. На Рисунке 15 представлена экспрессия ARID1a в эндометрии женщин исследуемых групп. Экспрессия ARID1a верифицируется в железах и стромальном компоненте эндометрия и имеет ядерную локализацию. В эндометрии пациенток основной группы отмечается выраженная экспрессия ARID1a, которая также локализуется в ядрах желез и стромы эндометрия. В контрольной группе диагностировано равномерное распределение экспрессии в обеих гистогенетических структурах эндометрия. Результаты анализа данных морфометрического исследования демонстрируют, что женщины с АМК и ожирением имеют наиболее выраженную экспрессию ARID1a в железистом компартменте эндометрия по сравнению с пациентками других групп ( $p=0,005$ ) (Таблица 40).

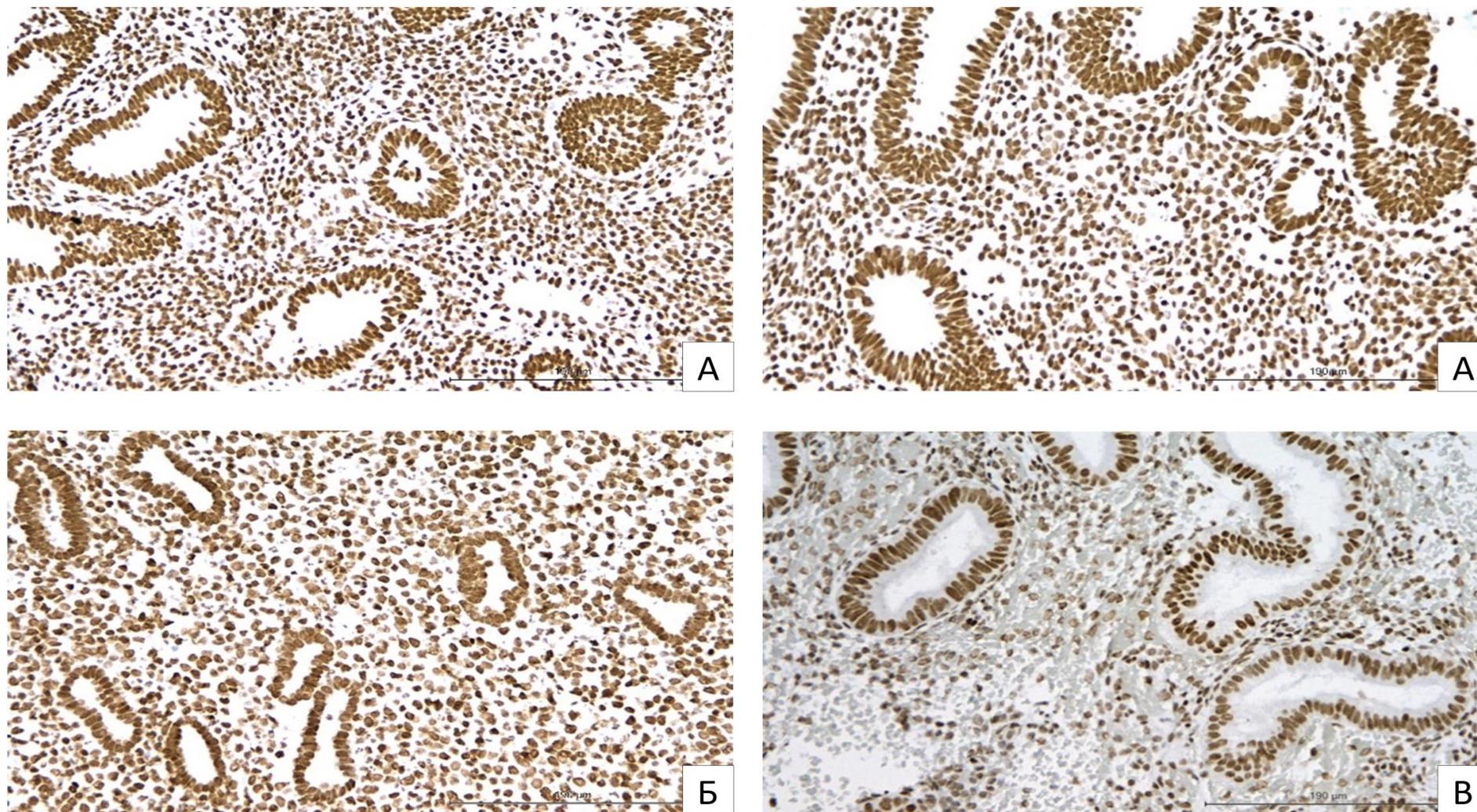


Рисунок 15 - Экспрессия ARID1a в эндометрии пациенток с АМК и ожирением (А) в сравнении с нормовесными (Б) и группой морфологического контроля (В), ИГХ×200

Таблица 40 – Анализ площади экспрессии ARID1a в железистом компоненте эндометрия женщин исследуемых групп, %

Группа	M±SD	95%ДИ	p
АМК+ожирение (n=20)	16,9±1,1	14,7-19,1	0,005
АМК+нормовесные (n=20)	13,1±0,9	11,2-15,0	p <sub>1-2</sub> =0,028
Группа морфологического контроля (n=10)	12,8±0,4	11,8-13,8	p <sub>1-3</sub> =0,004 p <sub>2-3</sub> =0,962

В строме эндометрия было обнаружено значимое повышение экспрессии ARID1a в сравнении с группой морфологического контроля (p<0,001). Между основными группами различий обнаружено не было (Таблица 41).

Таблица 41 – Анализ площади экспрессии ARID1a в стромальном компоненте эндометрия женщин исследуемых групп, %

Группа	M±SD	95%ДИ	p
АМК+ожирение (n=20)	42,1±1,6	38,7-45,5	0,001
АМК+нормовесные (n=20)	42,3±2,3	37,5-47,1	p <sub>1-2</sub> =0,998
Группа морфологического контроля (n=10)	27,3±1,5	24,0-30,6	p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001

При оценке оптической плотности экспрессии ARID1a в железах значимые отличия не были выявлены как между основными группами, так и в сравнении с группой морфологического контроля (p>0,05) (Таблица 42).

Таблица 42 - Оптическая плотность экспрессии ARID1a в железах эндометрия, усл.ед

Группа	M±SD	95%ДИ	p
АМК+ожирение (n=20)	0,17±0,01	0,15-0,18	0,05
АМК+нормовесные (n=20)	0,16±0,01	0,14-0,18	p <sub>1-2</sub> =0,961
Группа морфологического контроля (n=10)	0,19±0,01	0,16-0,22	p <sub>1-3</sub> =0,091 p <sub>2-3</sub> =0,056

В то же время в строме эндометрия (Таблица 43) верифицировано значимое снижение оптической плотности в группе с АМК и ожирение и у нормовесных с АМК по сравнению с группой морфологического контроля (p=0,001).

Таблица 43 - Оптическая плотность экспрессии ARID1a в строме эндометрия, усл.ед

Группа	M±SD	95% ДИ	p
АМК+ожирение (n=20)	0,18±0,01	0,17-0,19	p=0,001
АМК+нормовесные (n=20)	0,19±0,01	0,16-0,22	p <sub>1-2</sub> =0,889
Группа морфологического контроля (n=10)	0,24±0,01	0,22-0,27	p <sub>1-3</sub> =0,001 p <sub>2-3</sub> =0,011

Таким образом, у женщин с АМК и ожирением площадь экспрессии ARID1a в железистом компартменте эндометрия была значимо выше по сравнению с нормовесными и контрольной группой (p=0,005), в то время как достоверное повышение уровня экспрессии в стромальном компартменте эндометрия отмечалось у женщин с АМК вне зависимости от ИМТ по сравнению с группой контроля (p<0,001).

Формирование новых сосудов (ангиогенез) играет не менее важную роль в регенерации эндометрия и своевременной остановки маточного кровотечения. Эндотелиальная дисфункция и аномальная васкуляризация ткани эндометрия создает условия для более длительного маточного кровотечения, что может приводить к АМК. С целью уточнения патологических изменений сосудистого русла и нарушений ангиогенеза в эндометрии при АМК была изучена экспрессия эндотелиального маркера CD34+ и eNOS. Эндотелиальный маркер CD34+ верифицируются в эндотелиальных клетках сосудистых структур, капилляров, вен, артерий, имеет выраженные антиапоптотические свойства, способствует пролиферации эндотелиальных клеток сосудов и активируется под влиянием гипоксии. eNOS отвечает за продукцию оксида NO, который имеет исключительно важное значение в поддержании гомеостаза в эндотелии.

На Рисунке 16 представлена экспрессия эндотелиального маркера CD34+ в биоптатах эндометрия женщин сравниваемых групп.

В ходе оценки морфометрического исследования было установлено, что у женщин с АМК и ожирением и у нормовесных пациенток площадь экспрессии CD34+ в эндотелии сосудов эндометрия была достоверно выше в сравнении с контрольной группой (p<0,001).

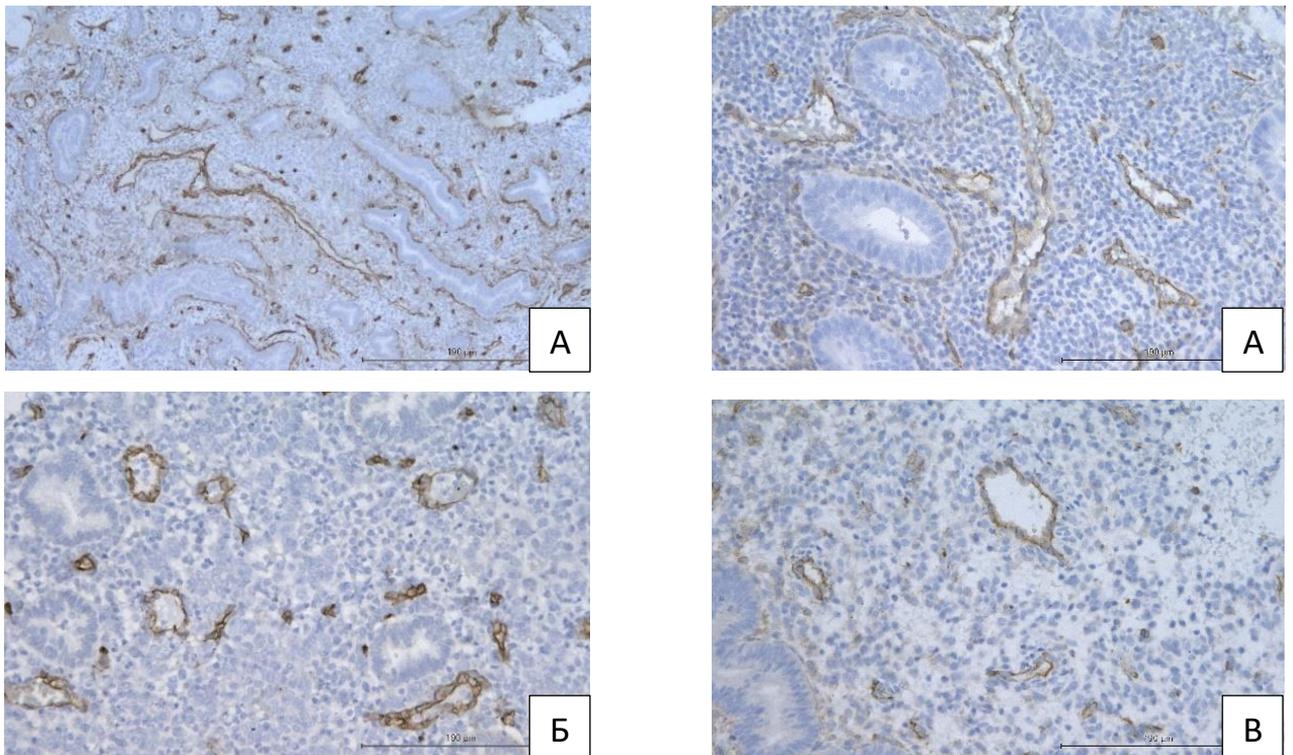


Рисунок 16 - Иммуногистохимическая реакция с антителом к CD34+ в эндометрии пациентки с АМК и ожирением (А), пациентки с АМК и нормальным весом (Б), пациентки группы морфологического контроля (С)

Сравнение площади экспрессии CD34+ между основными группами верифицировало значимое повышение экспрессии данного маркера в группе женщин с ожирением в сравнении с нормовесными ( $p=0,03$ ) (Таблица 44).

Таблица 44 – Анализ площади экспрессии эндотелиального маркера CD34+ в эндометрии женщин исследуемых групп, %

Группа	M±SD	95% ДИ	p
АМК+ожирение (n=20)	2,5±0,2	2,1-2,8	0,001
АМК+нормовесные (n=20)	1,8±0,2	1,5-2,2	$p_{1-2}=0,03$
Группа морфологического контроля (n=10)	0,5±0,1	0,4-0,6	$p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,001$

Оптическая плотность экспрессии эндотелиального маркера CD34+ представлена в Таблице 45. Отмечено, что оптическая плотность данного маркера была значимо ниже в группе женщин с АМК и ожирением в сравнении с контрольной группой.

Таблица 45 - Оптическая плотность экспрессии эндотелиального маркера CD34+ в эндометрии женщин исследуемых групп, усл. ед

Группа	M±SD	95%ДИ	p
АМК+ожирение (n=20)	0,27±0,01	0,24-0,29	0,001
АМК+нормовесные (n=20)	0,3±0,01	0,28-0,32	p <sub>1-2</sub> =0,074
Группа морфологического контроля (n=10)	0,32±0,01	0,27-0,3	p <sub>1-3</sub> =0,005 p <sub>2-3</sub> =0,376

Маркер eNOS экспрессируется также в эндотелии сосудов эндометрия. На Рисунке 17 представлена его экспрессия в биоптатах эндометрия пациенток сравниваемых групп.

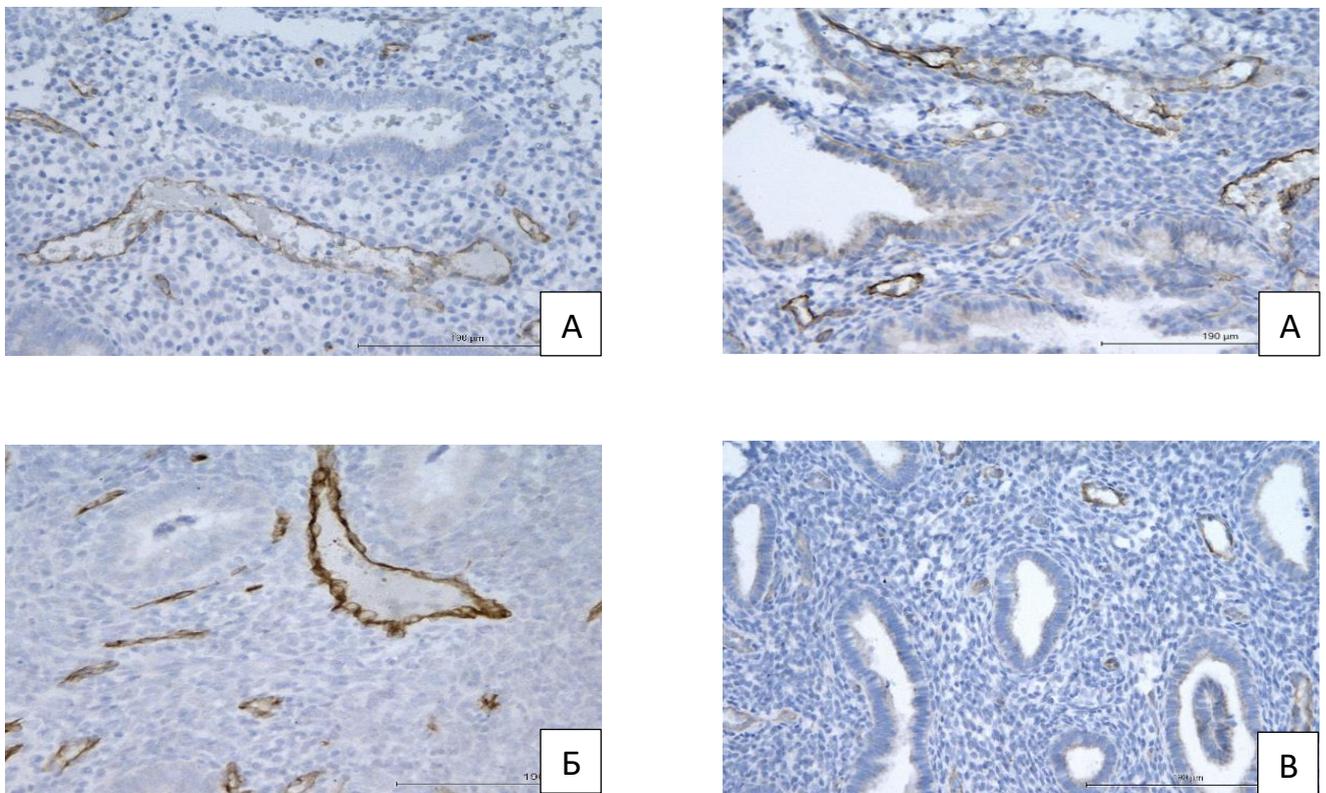


Рисунок 17 - Иммуногистохимическая реакция с антителом к eNOS в эндометрии пациентки с АМК и ожирением (А), пациентки с АМК и нормальным весом (Б), пациентки группы морфологического контроля (В)

Результаты морфометрического исследования продемонстрировали увеличение площади экспрессии площади экспрессии eNOS в 2 раза в группе женщин с АМК и ожирением по сравнению с женщинами с нормальным весом, и практически в 7 раз в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,001$ ) (Таблица 46).

Таблица 46 – Анализ площади экспрессии eNOS в эндометрии женщин исследуемых групп, %

Группа	M±SD	95% ДИ	p
АМК+ожирение (n=20)	8,7±0,6	7,3-10,0	0,001 p <sub>1-2</sub> < 0,001 p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>2-3</sub> < 0,001
АМК+нормовесные (n=20)	4,0±0,5	3,0-5,0	
Группа морфологического контроля (n=10)	1,3±0,2	0,9-1,7	

При сравнении оптической плотности экспрессии eNOS отмечено, что в группе обследованных с АМК и ожирением оптическая плотность была значимо ниже в отношении с нормовесными ( $p < 0,001$ ) и контрольной группой ( $p = 0,014$ ) (Таблица 47).

Таблица 47 - Оптическая плотность экспрессии eNOS в эндометрии женщин исследуемых групп, усл.ед

Группа	M±SD	95% ДИ	p
АМК+ожирение (n=20)	0,17±0,01	0,16-0,18	0,001 p <sub>1-2</sub> < 0,001 p <sub>1-3</sub> = 0,014 p <sub>2-3</sub> = 0,881
АМК+нормовесные (n=20)	0,2±0,004	0,19-0,21	
Группа морфологического контроля (n=10)	0,19±0,01	0,18-0,21	

Для определения роли маркеров ангиогенеза CD34+ и eNOS в патогенезе АМК-Е при ожирении был проведен поиск корреляционных связей между данными ИГХ маркерами и фактором транскрипции ARID1a (Таблица 48).

Таблица 48 – Результаты корреляционного анализа изучаемых иммуногистохимических маркеров при АМК

Показатель	Характеристика корреляционной связи		
	r	Теснота связи по шкале Чеддока	p
ARID1a железы - ARID1a строма	-0,457	Умеренная	0,043
ARID1a железы – CD34+ строма	0,684	Заметная	0,001
ARID1a строма – CD34+ строма	-0,322	Умеренная	0,166
ARID1a железы – eNOS строма	0,455	Умеренная	0,044
ARID1a строма – eNOS строма	-0,118	Слабая	0,621
CD34+ строма - eNOS строма	0,452	Умеренная	0,046

По результатам корреляционного анализа выявлена прямая связь умеренной

тесноты между маркерами ангиогенеза CD34+ и eNOS, что подтверждает их синергизм и патогенетическую роль в развитии патологических изменений сосудистого русла. В то же время определялась прямая связь заметной тесноты между ARID1a в железах эндометрия и CD34+, а также прямая связь умеренной тесноты между ARID1a в железах эндометрия и eNOS, что доказывает роль патологической активации неоангиогенеза в замедлении пролиферации и регенерации эндометрия.

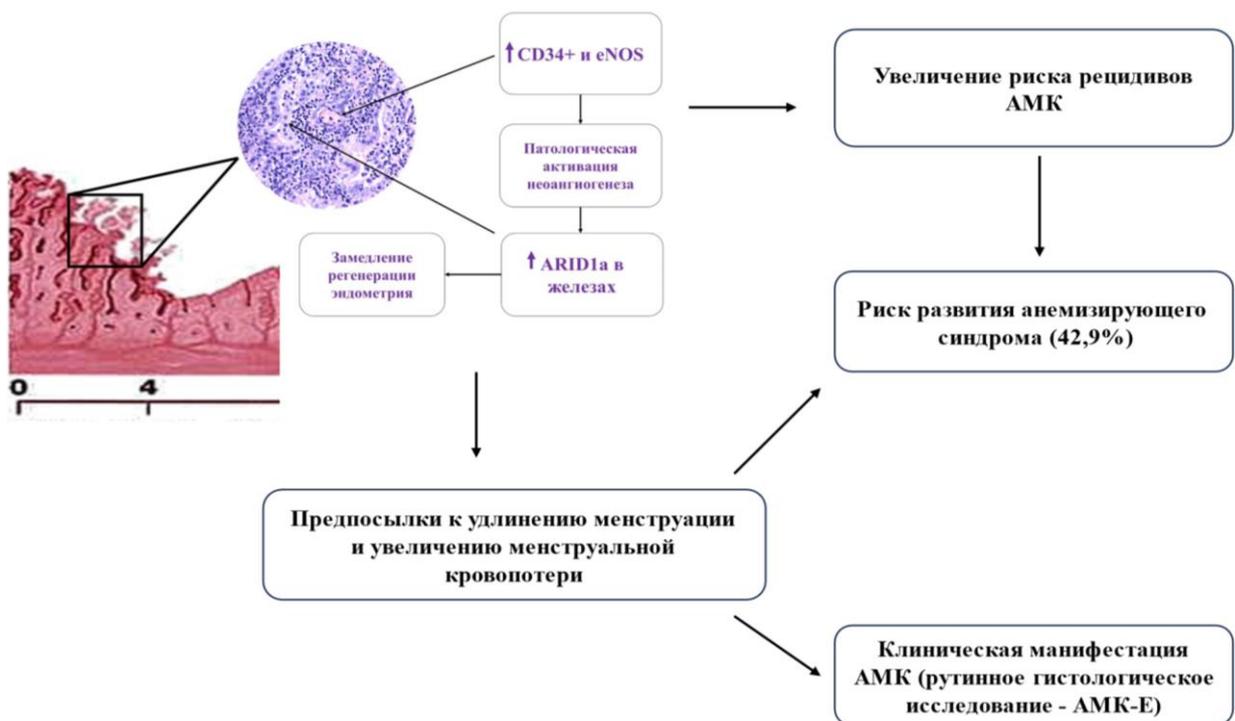


Рисунок 18 – Патогенез АМК и их рецидивов при ожирении

В ходе исследования выявлена зависимость площади экспрессии изучаемых ИГХ маркеров от носительства одиночных нуклеотидных полиморфизмов генов, значимость которых была доказана в настоящей работе.

При оценке уровня экспрессии ИГХ маркеров в группе с носительством генотипа *TC* по *eNOS T786C* было установлено, что носительство гетерозиготного генотипа по *eNOS T786C* ассоциируется с увеличением площади экспрессии eNOS в эндометрии в 1,7 раза (Таблица 49).

Таблица 49 – Анализ площади экспрессии ИГХ маркеров в зависимости от носительства генотипа *TC* по *eNOS T786C* у обследованных пациенток

Показатель	Генотип <i>TC</i> по <i>eNOS T786C</i>				p
	Отсутствует		Присутствует		
	M±SD	95% ДИ	M±SD	95% ДИ	
Площадь экспрессии ARID1a (железы)	14,2±0,78	12,6-15,8	14,9±0,94	12,9-16,8	0,584
Площадь экспрессии ARID1a (стромы)	37,4±2,2	32,9-41,9	40,7±1,9	36,9-44,6	0,249
Площадь экспрессии CD34+ (стромы)	1,77±0,24	1,3-2,3	1,9±0,16	1,6-2,2	0,655
Площадь экспрессии eNOS (стромы)	3,9±0,6	2,8-5,1	6,5±0,8	4,9-8,2	0,009

Учитывая значимо ( $p < 0,05$ ) высокую частоту носительства генотипа *CA* по *VEGF-A C2578A* в группе пациенток с ожирением и рецидивами АМК, а также увеличенный уровень экспрессии изучаемых ИГХ маркеров в эндометрии, проведена оценка носительства данного полиморфного варианта и площадью экспрессии маркеров в эндометрии, которая продемонстрировала ассоциацию между носительством гетерозиготного генотипа и увеличением уровня экспрессии eNOS в 1,6 раза в ткани эндометрия ( $p = 0,021$ ) (Таблица 50).

Таблица 50 – Анализ площади экспрессии ИГХ маркеров в зависимости от носительства генотипа *CA* по *VEGF-A C2578A* у обследованных пациенток

Показатель	Генотип <i>CA</i> по <i>VEGF-A C2578A</i>				p
	Отсутствует		Присутствует		
	M±SD	95% ДИ	M±SD	95% ДИ	
Площадь экспрессии ARID1a (железы)	14,1±0,7	12,6-15,6	15,2±1,1	12,9-17,4	0,392
Площадь экспрессии ARID1a (стромы)	37,9±1,8	34,1-41,7	41±2,2	36,4-45,6	0,294
Площадь экспрессии CD34+ (стромы)	1,7±0,2	1,3-2,1	1,98±0,2	1,6-2,4	0,372
Площадь экспрессии eNOS (стромы)	4,3±0,5	3,1-5,4	6,8±0,9	4,9-8,8	0,021

Противоречивые данные были получены при исследовании ассоциации генотипа *GG* по *IL6 C174G* с площадью экспрессии ИГХ маркеров в эндометрии (Таблица 51).

Таблица 51 – Анализ площади экспрессии ИГХ маркеров в зависимости от носительства генотипа *GG* по *IL6 C174G* у обследованных пациенток

Показатель	Генотип <i>GG</i> по <i>IL6 C174G</i> [ <i>rs1800795</i> ]				p
	Отсутствует		Присутствует		
	M±SD	95% ДИ	M±SD	95% ДИ	
Площадь экспрессии ARID1a (железы)	14,7±0,6	13,4-16	11,4±1,8	5,6-17,2	0,151
Площадь экспрессии ARID1a (стромы)	39,6±1,5	36,6-42,6	33,2±5,8	14,7-51,8	0,234
Площадь экспрессии CD34+ (стромы)	1,9±0,1	1,6-2,2	0,8±0,3	0,2-1,8	0,032
Площадь экспрессии eNOS (стромы)	5,6±0,6	4,5-6,7	2,3±0,8	1,1-5,8	0,047

В настоящем исследовании не было выявлено значимых различий в частоте встречаемости мутантного гомозиготного генотипа по *IL6 C174G* между исследуемыми группами, однако площадь экспрессии маркеров ангиогенеза CD34+ и eNOS при носительстве данного генотипа была в 2,4 раза ниже ( $p < 0,05$ ). Таким образом, в настоящем исследовании с помощью морфометрического метода была выявлена наибольшая площадь экспрессии ARID1a (железы), CD34+ и eNOS в группе женщин с АМК и ожирением, значимые положительные корреляционный связи между данными маркерами доказывают общность патогенеза АМК у женщин с ожирением, а взаимосвязь уровня экспрессии с носительством полиморфных вариантов генов, изучаемых в данном исследовании, определяет возможную генетическую детерминированность дефекта гипоксического ответа и патологической активации неоангиогенеза в эндометрии при АМК на фоне ожирения.

### 5.3 Морфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия у пациенток с рецидивами АМК-Е и ожирением

В ходе исследования проведена оценка гистологического заключения биоптатов эндометрия у женщин с ожирением и рецидивами АМК и женщин с ожирением и впервые возникшим эпизодом АМК (Таблица 52).

Таблица 52 – Варианты патоморфологического заключения биоптатов эндометрия у пациенток с АМК и ожирением

Гистологическое заключение	Группа	АМК рецидив		АМК впервые		p
		Абс.	%	Абс.	%	
Железистая гиперплазия эндометрия		15	39,5	22	37,3	0,511
Полип тела матки		1	2,6	8	26,7	0,036
Аденоматозная гиперплазия эндометрия		0	0	2	1,3	0,499
Лейомиома		0	0	1	1,3	1,000
Рак эндометрия		0	0	0	0	-
Эндометрий фазы десквамации		19	50,0	8	16,0	0,002
Эндометрий фазы пролиферации		2	5,3	3	10,7	1,000
Эндометрий фазы секреции		1	2,6	2	5,3	1,000

По результатам анализа гистологического исследования было выявлено, что в группе с рецидивами АМК значимо чаще встречается эндометрий фазы десквамации в сравнении с группой с впервые возникшим эпизодом АМК ( $p=0,002$ ). Напротив, полип тела матки регистрировался в большем проценте случаев в группе с впервые возникшим эпизодом АМК ( $p=0,036$ ).

С целью определения роли исследуемых ИГХ маркеров в реализации рецидивов АМК-Е у женщин с ожирением была выделена когорта пациенток с АМК и ожирением без структурных изменений эндометрия ( $n=20$ ), которую стратифицировали на две группы в зависимости от наличия/отсутствия эпизодов АМК в анамнезе: I группа – АМК рецидив ( $n=9$ ), II группа – АМК впервые возникший эпизод ( $n=11$ ). В качестве группы морфологического контроля были взяты биоптаты эндометрия женщин репродуктивного возраста без АМК в анамнезе ( $n=10$ ). По результатам патоморфологического исследования в первой

группе у 7 пациенток (77,8%) регистрировалась фаза десквамации и у 2х пациенток (22,2%) – пролиферативная фаза, во второй группе фаза десквамация была определена у 8 пациенток (72,7%), пролиферативная фаза у 2х (18,2%) и фаза секреции у 1 пациентки (9,1%).

В ходе исследования проведена оценка морфометрического исследования экспрессии ARID1a в железистом и стромальном компартменте эндометрия (Таблицы 53, 54).

Таблица 53– Анализ площади экспрессии ARID1a в железистом компоненте эндометрия у женщин с АМК и ожирением, %

Группа	M±SD	95% ДИ	p
АМК рецидив (n=9)	19,2±1,1	16,6-21,7	0,002
АМК впервые (n=11)	15,0±1,5	11,6-18,3	p <sub>1-2</sub> =0,038
Группа морфологического контроля (n=10)	12,8±0,4	11,8-13,8	p <sub>1-3</sub> =0,002 p <sub>2-3</sub> =0,377

Отмечались значимые различия в площади экспрессии изучаемого фактора как в железах (p=0,002), так и в строме (p<0,001) эндометрия. В группе с рецидивами АМК площадь экспрессии ARID1a в железистом компоненте была значимо выше в сравнении с группой с впервые возникшим эпизодом АМК (p=0,038) и группой морфологического контроля (p=0,002).

С помощью анализа ROC-кривых была построена зависимость вероятности рецидивов АМК от площади экспрессии ARID1a в железистом компартменте (Рисунок 19).

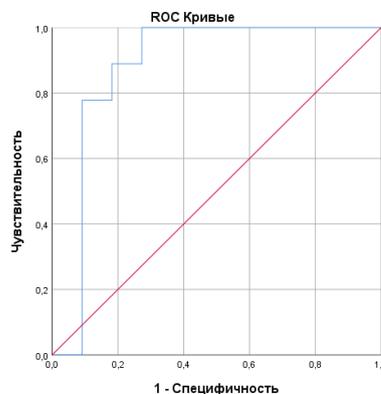


Рисунок 19 – ROC-кривая, характеризующая зависимость рецидивов АМК от площади экспрессии ARID1a в железах эндометрия

Площадь под ROC-кривой составила  $0,879 \pm 0,09$  с 95% ДИ: 0,7–1,0. Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,004$ ). При площади экспрессии ARID1a в железах эндометрия  $\geq 15,6\%$  прогнозировался высокий риск рецидивов АМК (чувствительность – 88,9%, специфичность – 81,8%).

В строме эндометрия площадь экспрессии ARID1a была значимо выше как в группе с рецидивами АМК, так и в группе с первичным эпизодом, в сравнении с контрольной. При сравнении между основными группами значимых различий в площади экспрессии не регистрировалось ( $p=0,616$ ) (Таблица 54).

Таблица 54 – Анализ площади экспрессии ARID1a в стромальном компоненте эндометрия у женщин с АМК и ожирением, %

Группа	M±SD	95% ДИ	p
АМК рецидив (n=9)	40,6±2,1	35,7-45,4	<0,001
АМК впервые (n=11)	43,4±2,4	37,9-48,8	$p_{1-2}=0,616$
Группа морфологического контроля (n=10)	27,3±1,5	24-30,6	$p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,001$

При оценке оптической плотности экспрессии ARID1a в железах значимые отличия как между основными группами с АМК и ожирением вне зависимости от наличия рецидива, так и в сравнении с группой морфологического контроля не выявлено ( $p=0,125$ ), в то время как в строме верифицировано значимое снижение оптической плотности в двух основных группах по сравнению с контрольной группой ( $p=0,001$ ) (Таблицы 55, 56).

Таблица 55 – Анализ оптической плотности экспрессии ARID1a в железах эндометрия у женщин с ожирением, усл.ед

Группа	M±SD	95% ДИ	p
АМК рецидив (n=9)	0,16±0,01	0,14-0,18	0,125
АМК впервые (n=11)	0,17±0,01	0,14-0,19	$p_{1-2}=0,991$
Группа морфологического контроля (n=10)	0,19±0,01	0,16-0,22	$p_{1-3}=0,171$ $p_{2-3}=0,183$

Установлено, что площадь экспрессии эндотелиального маркера CD34+ в эндометрии была в 1,5 раза выше в группе женщин с рецидивом АМК в сравнении

Таблица 56 - Анализ оптической плотности ARID1a в строме эндометрия у женщин с ожирением, усл.ед

Группа	M±SD	95%ДИ	p
АМК рецидив (n=9)	0,18±0,01	0,15-0,21	<0,001 p <sub>1-2</sub> =0,977
АМК впервые (n=11)	0,18±0,01	0,16-0,22	
Группа морфологического контроля (n=10)	0,24±0,01	0,22-0,27	p <sub>1-3</sub> =0,001 p <sub>2-3</sub> =0,001

с первичным эпизодом АМК (p=0,001) и в 6 раз в сравнении с пациентками группы морфологического контроля (p<0,001). Также отмечено, что площадь экспрессии данного маркера в группе с впервые возникшим эпизодом АМК была в 4 раза выше по сравнению с группой контроля (p<0,001) (Таблица 57).

Таблица 57 – Анализ площади экспрессии эндотелиального маркера CD34+ в эндометрии женщин исследуемых групп, %

Группа	M±SD	95%ДИ	p
АМК рецидив (n=9)	3,1±0,2	2,6-3,6	<0,001 p <sub>1-2</sub> =0,001
АМК впервые (n=11)	2,0±0,1	1,8-2,3	
Группа морфологического контроля (n=10)	0,5±0,1	0,4-0,6	p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001

Для определения прогностического значения экспрессии CD34+ в строме эндометрия у женщин с рецидивами АМК был проведен ROC-анализ с построением следующей кривой (Рисунок 20).

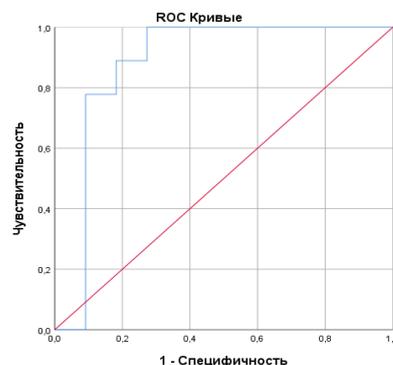


Рисунок 20 – ROC-кривая, характеризующая зависимость рецидивов АМК от площади экспрессии эндотелиального маркера CD34+ в эндометрии

Площадь под ROC-кривой составила  $0,904 \pm 0,068$  с 95% ДИ: 0,77–1,0. Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,002$ ). При площади экспрессии  $CD34+ \geq 2,4\%$  прогнозировался высокий риск рецидивов АМК (чувствительность – 88,9%, специфичность – 81,8%).

Оптическая плотность экспрессии  $CD34+$  представлена в Таблице 58. Значимая разница отмечалась в группе с повторным эпизодом АМК, где оптическая плотность была в 1,2 раза ниже по сравнению с группой морфологического контроля ( $p=0,018$ ).

Таблица 58 - Оптическая плотность экспрессии эндотелиального маркера  $CD34+$  в эндометрии женщин исследуемых групп, усл. ед

Группа	M±SD	95% ДИ	p
АМК рецидив (n=9)	0,26±0,01	0,23-0,29	p=0,032 p <sub>1-2</sub> =0,995 p <sub>1-3</sub> =0,018 p <sub>2-3</sub> =0,075
АМК впервые (n=11)	0,27±0,02	0,22-0,31	
Группа морфологического контроля (n=10)	0,32±0,01	0,27-0,3	

Результаты морфометрического исследования экспрессии eNOS продемонстрировали значимое увеличение площади экспрессии eNOS в 1,5 раза в группе женщин с рецидивами АМК по сравнению с женщинами с впервые возникшим эпизодом, и в 8 раз - в сравнении с группой контроля (Таблица 59).

Таблица 59 – Анализ площади экспрессии эндотелиального маркера eNOS в эндометрии женщин исследуемых групп, %

Группа	M±SD	95% ДИ	p
АМК рецидив (n=9)	10,8±0,76	9,0-12,5	p<0,001 p <sub>1-2</sub> =0,004 p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001
АМК впервые (n=11)	7,0±0,64	5,6-8,4	
Группа морфологического контроля (n=10)	1,3±0,2	0,9-1,7	

С помощью анализа ROC-кривых была построена зависимость вероятности рецидивов АМК от площади экспрессии eNOS в эндометрии (Рисунок 21). Площадь под ROC-кривой составила  $0,864 \pm 0,084$  с 95% ДИ: 0,7–1,0. Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,006$ ).

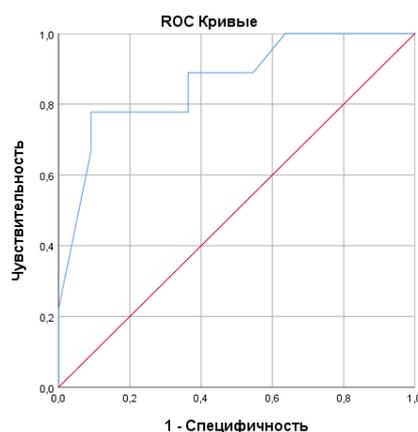


Рисунок 21 – ROC-кривая, характеризующая зависимость рецидивов АМК от площади экспрессии eNOS в эндометрии

При площади экспрессии eNOS  $\geq 9,65\%$  прогнозировался высокий риск рецидивов АМК (чувствительность – 77,8%, специфичность – 90,9%).

При сравнении оптической плотности экспрессии eNOS отмечено статистически значимое снижение в первой группе обследованных в отношении с группой морфологического контроля ( $p=0,011$ ) (Таблица 60).

Таблица 60 - Оптическая плотность экспрессии эндотелиального маркера eNOS в эндометрии

Группа	M $\pm$ SD	95% ДИ	p
АМК рецидив (n=9)	0,17 $\pm$ 0,004	0,16-0,17	0,012
АМК впервые (n=11)	0,17 $\pm$ 0,01	0,16-0,19	$p_{1-2}=0,575$
Группа морфологического контроля (n=10)	0,19 $\pm$ 0,01	0,18-0,21	$p_{1-3}=0,011$ $p_{2-3}=0,08$

Таким образом, в ходе проведенного исследования было выявлено изменение экспрессии исследованных маркеров – ARID1a (транскрипционный фактор мутации генов), CD34+ (эндотелиального маркера), eNOS (эндотелиальная синтаза оксида азота) в эндометрии пациенток основных групп по отношению к группе морфологического контроля. Учитывая стратификацию основной группы на две подгруппы в зависимости от наличия ожирения, полученные результаты демонстрируют более выраженную экспрессию пролиферативного маркера в

железистом компартменте эндометрия и маркеров ангиогенеза в строме эндометрия женщин с АМК и ожирением по сравнению с нормовесными.

Высокий уровень экспрессии CD34+ и eNOS отражает патологическую активацию неоангиогенеза в строме эндометрия женщин с АМК и ожирением, приводящего к замедлению регенерации эндометрия во время маточного кровотечения за счет железистого компартмента, что доказывает значимо высокая площадь экспрессии фактора ARID1a в железах эндометрия.

Применение данных маркеров обосновано получением комплексных данных о патологическом изменении экспрессии маркеров ангиогенеза и маркера нарушения транскрипции генов, что позволяет оценить состояние эндометрия на молекулярном уровне и предположить их применение у пациенток с АМК в качестве предикторов рецидивов АМК.

## ГЛАВА 6. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ АЛГОРИТМА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ВЫБОРА ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С АНОМАЛЬНЫМИ МАТОЧНЫМИ КРОВОТЕЧЕНИЯМИ И ОЖИРЕНИЕМ

### 6.1 Прогнозирование персонального риска рецидива АМК у женщин с ожирением в репродуктивном возрасте на основании клинико-анамнестических и молекулярно-генетических предикторов

По результатам сравнительного анализа, включающего оценку вероятного наступления рецидива АМК у женщин с ожирением в зависимости от клинико-анамнестических данных, были получены следующие результаты (Таблица 61).

Таблица 61 – Клинико-анамнестические факторы риска рецидивов АМК у женщин с ожирением

Фактор риска	p	ОШ (95% ДИ)
Факт курения	<0,001	2,9 (1,1–7,6)
Ожирение 3 степени	0,004	4,5 (1,6–12,6)
Масса тела	0,014	-
Окружность талии (ОТ)	0,001	-
Окружность бедер (ОБ)	0,002	-
Индекс ОТ/ОБ	0,032	-
Наличие сердечно-сосудистых заболеваний	0,004	3,9 (1,6–10,0)
Наличие гипертонической болезни	0,016	3,5 (1,3–9,4)
Наличие варикозной болезни вен нижних конечностей	0,028	3,8 (1,2–12,0)
Обильные менструации	0,015	3,2 (1,3–7,9)
Длительность менструации	<0,001	-
Степень защиты гигиенических средств	0,009	-
Наличие ВЗОМТ в анамнезе	0,028	3,8 (1,2–12,0)
Отсутствие родов в анамнезе	0,046	2,5 (1,1–6,3)
Наличие неразвивающейся беременности в анамнезе	0,043	8,4 (1,0–73,5)

С целью построения математической модели прогноза персонального риска рецидивов АМК у женщин с ожирением методом пошагового подбора с использованием способа исключений Вальда было отобрано 5 предикторов, совокупность которых в большей степени влияла на риски рецидивов АМК у

женщин с ожирением, что подтверждается показателями чувствительности и специфичности. Математическая Модель 1 была получена с применением метода бинарной логистической регрессии. Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$P = 1 / (1 + e^{-z})$$

$$z = -13,6 + 1,61X_{\text{КУР}} + 1,75X_{\text{ВЗОМТ}} + 0,82X_{\text{ДМ}} + 0,04X_{\text{ОТ}} + 0,65X_{\text{СЗГС}} \quad (1),$$

где P - вероятность рецидива АМК у женщин с ожирением в долях единиц,

$X_{\text{КУР}}$  - наличие курения (0 - некурящие; 1 - курящие),

$X_{\text{ВЗОМТ}}$  - ВЗОМТ в анамнезе (0 - отсутствие; 1 - наличие),

$X_{\text{ДМ}}$  - длительность менструаций (в днях),

$X_{\text{ОТ}}$  - окружность талии (см),

$X_{\text{СЗГС}}$  - степень защиты гигиенических средств (в абс. числах).

Пороговое значение логистической функции P определяли с помощью ROC-анализа (Рисунок 22).

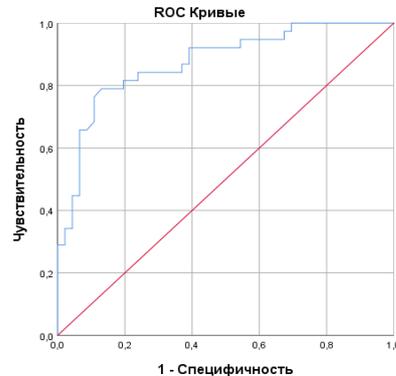


Рисунок 22 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности рецидива АМК при ожирении от значения логистической функции P (Модель 1)

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Согласно значению коэффициента детерминации Найджелкерка, модель (1) определяет 52,6% дисперсии вероятности развития рецидивов АМК у женщин с ожирением. Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза рецидива АМК при ожирении и значения логистической регрессионной функции, составила  $0,87 \pm 0,04$  с 95% ДИ: 0,8–0,95.

Пороговое значение функции  $P(1)$  в точке cut-off составляло 0,43. Значения функции, равные или превышающие данное значение соответствовали прогнозу рецидива АМК при ожирении. Чувствительность и специфичность модели составили соответственно 81,6% и 80,4%, диагностическая эффективность – 82,1%.

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, факторы курение, наличие ВЗОМТ в анамнезе, длительные менструации, ОТ и степень защиты гигиенических средств имеют прямую связь с вероятностью развития рецидивов АМК при ожирении. Курение увеличивает шансы рецидивов АМК в 5 раз (95% ДИ: 1,4 - 18,2), наличие ВЗОМТ в анамнезе в 5,7 раз (95% ДИ: 1,3–26,4), увеличение длительности менструации на 1 день повышает шансы рецидивов АМК в 2,3 раза (95% ДИ: 1,4–3,7), увеличение степени защиты гигиенических средств на 1 единицу увеличивает шансы рецидивов АМК в 1,9 раз (95% ДИ: 1,1–3,4), увеличение ОТ на 1 см – в 1,04 раза (95% ДИ: 1,01–1,07) (Рисунок 23).

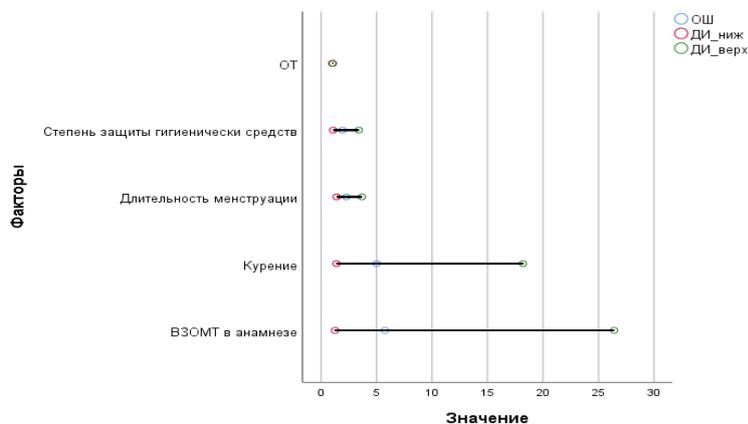


Рисунок 23 – Диаграмма форест-плот, отражающая ОШ с 95% ДИ, для клинико-анамнестических факторов риска рецидивов АМК

Согласно молекулярно-генетическому исследованию одиночных нуклеотидных полиморфизмов было получено, что у женщин с рецидивами АМК и ожирением значимо чаще отмечалось носительство генотипа *TC* по *eNOS* [*rs2070744*] и *CA* по *VEGF-A* [*rs699947*] по сравнению с пациентками, у которых АМК зарегистрировано впервые ( $p < 0,04$ ). Вторая прогностическая модель для прогнозирования персонального риска рецидивов АМК при ожирении с учетом

молекулярно-генетических показателей включает 7 предикторов: наличие в анамнезе ВЗОМТ, курение, длительность менструации, ОТ, степень защиты гигиенических средств, носительство генотипа *TC* по *eNOS* [rs2070744] и носительство генотипа *CA* по *VEGF-A* [rs699947]. Стоит отметить, что в рутинной практике исследования на выявление данных полиморфизмов не выполняется и требует показаний и дополнительных затрат. Полученная зависимость описывается уравнением бинарной логистической регрессии (Модель 2):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где}$$

$$z = -16,8 + 1,9X_{\text{КУР}} + 1,55X_{\text{ВЗОМТ}} + 1,1X_{\text{ДМ}} + 0,04X_{\text{ОТ}} + 0,6X_{\text{СЗГС}} + 0,73X_{\text{ТС}} + 1,73X_{\text{СА}} \quad (2),$$

где  $P$  – вероятность рецидива АМК у женщин с ожирением в долях единиц,

$X_{\text{КУР}}$  - наличие курения (0 - некурящие; 1 - курящие),

$X_{\text{ВЗОМТ}}$  - ВЗОМТ в анамнезе (0 - отсутствие; 1- наличие),

$X_{\text{ДМ}}$  - длительность менструаций (дни),

$X_{\text{ОТ}}$  - окружность талии (см),

$X_{\text{СЗГС}}$  - степень защиты гигиенических средств (в абс. числах),

$X_{\text{ТС}}$  - носительство генотипа *TC* по *eNOS* (0 - отсутствие; 1- наличие),

$X_{\text{СА}}$  - носительство генотипа *CA* по *VEGF-A* (0 - отсутствие; 1- наличие).

Пороговое значение логистической функции  $P$  определяли с помощью ROC-Анализа (Рисунок 24).

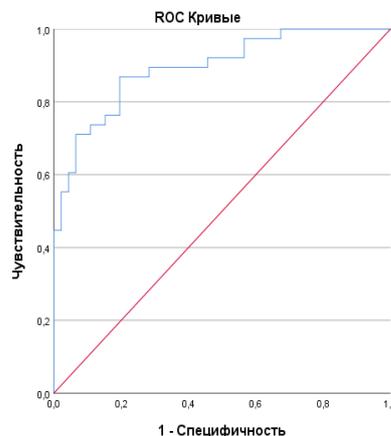


Рисунок 24 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности рецидива АМК при ожирении от значения логистической функции  $P$  (Модель 2)

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Согласно значению коэффициента детерминации Найджелкерка, модель (2) определяет 61,1% дисперсии вероятности развития рецидивов АМК у женщин с ожирением. Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза рецидива АМК при ожирении и значения логистической регрессионной функции, составила  $0,89 \pm 0,04$  с 95% ДИ: 0,83–0,96.

Пороговое значение функции Р (2) в точке cut-off составляло 0,39. Значения функции, равные или превышающие данное значение соответствовали прогнозу рецидива АМК при ожирении. Чувствительность и специфичность модели составили соответственно 86,8% и 80,4%, диагностическая эффективность – 84,5%.

## **6.2 Прогнозирование персонального риска рецидивов АМК при ожирении на основании иммуногистохимических предикторов**

По результатам проведенного патоморфологического и ИГХ исследования среди пациенток с АМК и ожирением были выявлены факторы риска рецидивов АМК. На основании выявленных факторов была разработана прогностическая модель (Модель 3) персонального риска рецидивов АМК при ожирении. Третья прогностическая модель для прогнозирования персонального риска рецидивов АМК при ожирении включает 2 предиктора, полученных в результате ИГХ исследования биоптатов эндометрия: площадь экспрессии CD34+ и экспрессии eNOS. Полученная зависимость описывается уравнением бинарной логистической регрессии (Модель 3):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где}$$

$$z = -14,744 + 3,1X_{CD34+} + 0,74X_{eNOS} \quad (3),$$

$X_{CD34+}$  - площадь экспрессии CD34+ в строме эндометрии (в целых числах, %),

$X_{eNOS}$  - площадь экспрессии eNOS в строме эндометрия (в целых числах, %).

Пороговое значение логистической функции Р определяли с помощью ROC-анализа (Рисунок 25).

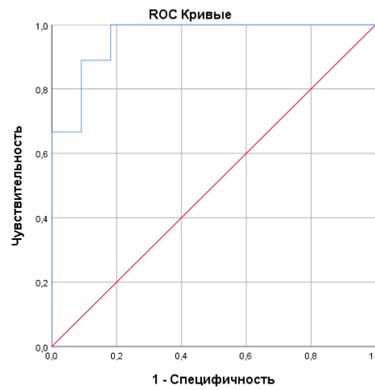


Рисунок 25 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности рецидива АМК при ожирении от значения логистической функции P (Модель 3)

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Согласно значению коэффициента детерминации Найджелкерка, модель (3) определяет 77,3% дисперсии вероятности развития рецидивов АМК у женщин с ожирением. Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза рецидива АМК при ожирении и значения логистической регрессионной функции, составила  $0,96 \pm 0,04$  с 95% ДИ: 0,88–1.

Пороговое значение функции P (3) в точке cut-off составляло 0,45. Значения функции, равные или превышающие данное значение соответствовали прогнозу рецидива АМК при ожирении. Чувствительность и специфичность модели составили соответственно 90,0% и 90,9%, диагностическая эффективность 90,0%.

### **6.3 Алгоритм дифференцированного подхода к тактике ведения пациенток репродуктивного возраста с АМК и ожирением**

Полученные результаты на всех этапах проведенного исследования позволили сформировать прогностические модели персонального риска рецидивов АМК у женщин в репродуктивном возрасте с ожирением, на основании которых был модифицирован алгоритм дифференцированного подхода к тактике ведения данной группы пациенток.

Согласно разработанному алгоритму, пациенток репродуктивного возраста с АМК в анамнезе и ожирением предварительно необходимо стратифицировать на группы риска повторных эпизодов АМК на основании клинико-анамнестических предикторов рецидива, используя Модель 1 (диагностическая эффективность – 82,1%), которая описывается уравнением:

$$P = 1 / (1 + e^{-z})$$

$$z = -13,6 + 1,61X_{\text{КУР}} + 1,75X_{\text{ВЗОМТ}} + 0,82X_{\text{ДМ}} + 0,04X_{\text{ОТ}} + 0,65X_{\text{СЗГС}} \quad (1),$$

где P – вероятность рецидива АМК у женщин с ожирением в долях единиц,

$X_{\text{КУР}}$  - наличие курения (0 - некурящие; 1 - курящие),

$X_{\text{ВЗОМТ}}$  - ВЗОМТ в анамнезе (0 - отсутствие; 1 - наличие),

$X_{\text{ДМ}}$  - длительность менструаций (дни),

$X_{\text{ОТ}}$  - окружность талии (см),

$X_{\text{СЗГС}}$  - степень защиты гигиенических средств (в абс. числах).

При значении  $P \geq 0,43$  пациентку необходимо отнести к группе по наличию риска рецидива АМК, при  $P < 0,43$  - риск рецидива АМК отсутствует, пациентка не нуждается в дальнейшем дообследовании. При наличии риска с целью дообследования пациенткам рекомендовано молекулярно-биологическое исследование на полиморфизм гена *eNOS* [rs2070744] и гена *VEGF-A* [rs699947] с дополнительным расчетом риска рецидива АМК, используя Модель 2 (диагностическая эффективность 84,5%), которая описана следующим уравнением:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где}$$

$$z = -16,8 + 1,9X_{\text{КУР}} + 1,55X_{\text{ВЗОМТ}} + 1,1X_{\text{ДМ}} + 0,04X_{\text{ОТ}} + 0,6X_{\text{СЗГС}} + 0,73X_{\text{ТС}} + 1,73X_{\text{СА}} \quad (2),$$

где P – вероятность рецидива АМК у женщин с ожирением в долях единиц,

$X_{\text{КУР}}$  - наличие курения (0 - некурящие; 1 - курящие),

$X_{\text{ВЗОМТ}}$  - ВЗОМТ в анамнезе (0 - отсутствие; 1 - наличие),

$X_{\text{ДМ}}$  - длительность менструаций (дни),

$X_{\text{ОТ}}$  - окружность талии (см),

$X_{\text{СЗГС}}$  - степень защиты гигиенических средств (в абс. числах),

$X_{\text{ТС}}$  - носительство генотипа *ТС* по *eNOS* (0 - отсутствие; 1 - наличие),

$X_{\text{СА}}$  - носительство генотипа *СА* по *VEGF-A* (0 - отсутствие; 1 - наличие).

Если  $P \geq 0,39$ , риска рецидива АМК есть, при  $P < 0,39$  риска нет.

При наличии риска у пациентки необходимо провести морфофункциональную оценку эндометрия. С этой целью следует выполнить аспирационную биопсию эндометрия на 2-3й день менструального цикла. Для определения морфофункционального состояния эндометрия необходимо выполнить стандартное патоморфологическое исследование биоптатов эндометрия с последующей оценкой гистологического заключения. При наличии патологических изменений по результатам гистологического заключения (полип тела матки, ГЭ, лейомиома) требуется их коррекция, в соответствии с утвержденными клиническим протоколами лечения. При отсутствии патологических изменений (нормальная морфологическая картина эндометрия) пациенткам следует выполнить ИГХ исследование биоптатов эндометрия с использованием антител CD34+ и eNOS, с последующим расчётом площади экспрессии данных факторов.

Полученные результаты следует применять для прогнозирования персонального риска рецидивов АМК репродуктивного возраста при ожирении у женщин с нормальной морфологической картиной эндометрия, используя Модель 3 (диагностическая эффективность – 90,0%), которая описана следующим уравнением:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где}$$

$$z = -14,744 + 3,1X_{CD34+} + 0,74X_{eNOS} \quad (3),$$

$X_{CD34+}$  - площадь экспрессии CD34+ в строме эндометрии (в целых числах, %),

$X_{eNOS}$  - площадь экспрессии eNOS в строме эндометрия (в целых числах, %).

У женщин с ожирением и АМК при значении логистической функции  $P \geq 0,45$  прогнозируется высокий риск рецидива АМК, а при значении  $P < 0,45$  – низкий риск. Это позволяет классифицировать пациенток в зависимости от морфофункционального состояния эндометрия с целью применения профилактических мероприятий при неблагоприятном прогнозе. Такие меры направлены на снижение вероятности возникновения рецидивов АМК в будущем.

Разработанный алгоритм представлен на Рисунке 26.

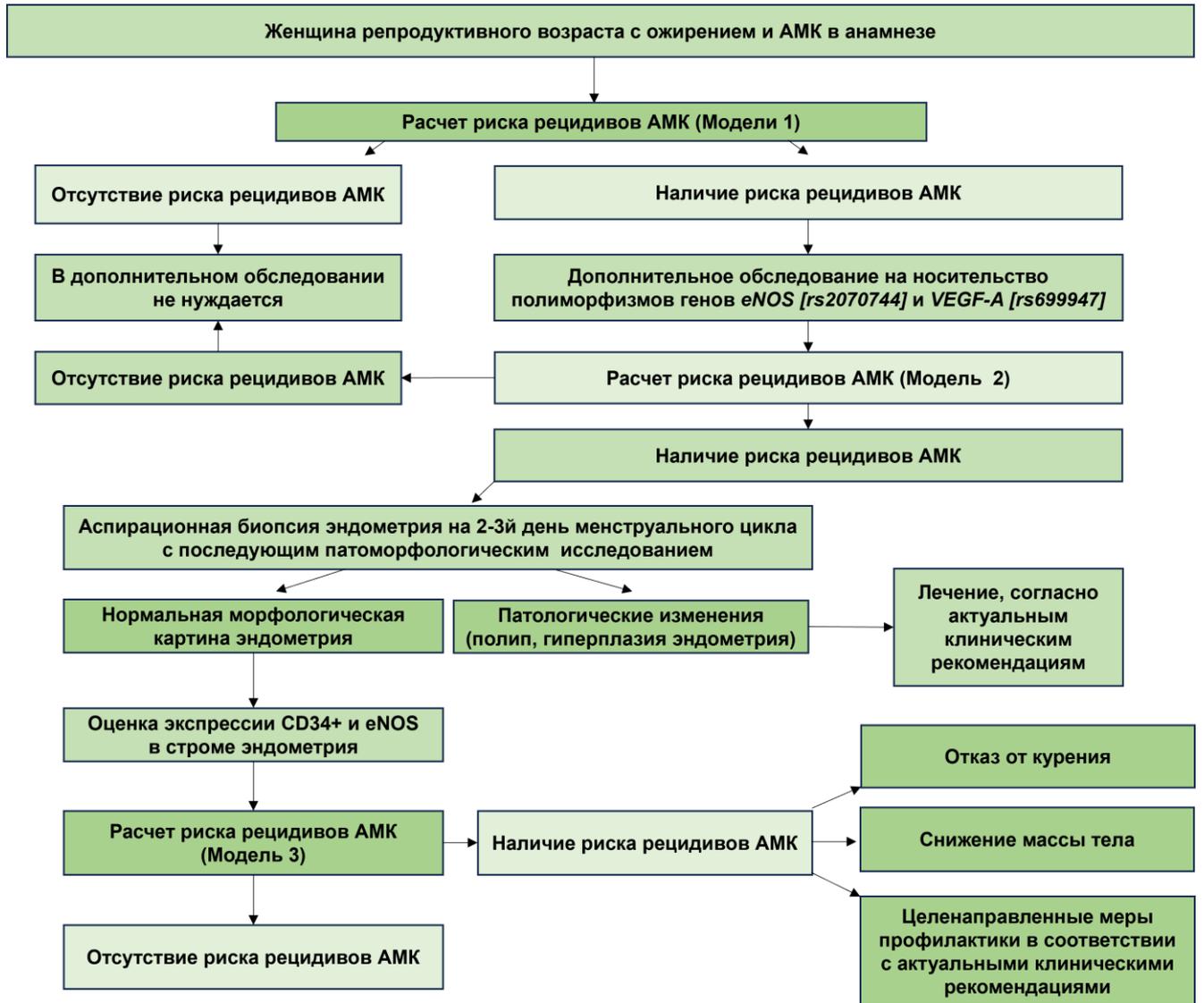


Рисунок 26 – Алгоритм дифференцированного подхода к тактике ведения пациенток с АМК и ожирением

## ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Репродуктивное здоровье женщины — это состояние физического, психологического и социального благополучия, связанное с ее способностью к планированию и реализации беременности, рождению здорового потомства и обеспечению оптимального роста и развития детей. Этот термин охватывает различные аспекты женской репродуктивной системы, включая менструальный цикл, фертильность, беременность, роды, лактацию, а также профилактику и лечение репродуктивных заболеваний. Сохранение репродуктивного здоровья женщин играет ключевую роль в поддержании здоровья всего общества. Это связано с тем, что репродуктивные проблемы могут повлиять на физическое и психологическое благополучие женщин [74], а также привести к социальным и экономическим последствиям для самих женщин и их семей [137].

Нарушение менструального цикла, в частности АМК, могут оказывать существенное влияние на женское репродуктивное здоровье, а именно приводят к проблемам с зачатием, так как они могут свидетельствовать о нарушениях овуляции или имплантации эмбриона. Также АМК могут повышать риск преждевременных родов, рождения маловесных детей и других осложнений беременности [50]. Частые и обильные кровотечения могут вызывать стресс и тревожность, что также влияет на психологическое благополучие женщины и ее отношение к репродуктивному здоровью [74]. АМК приводят к дискомфорту, утомляемости и ограничению обычных активностей, что сказывается на общем качестве жизни [118]. Женщины с АМК нуждаются в медикаментозном или хирургическом лечении, что влияет на их репродуктивные планы и качество жизни. Также, одним из частых осложнений данного состояния является формирование железодефицита вплоть до развития ЖДА. Связь между АМК и ЖДА представляет собой важный аспект здоровья женщин, поскольку анемизация пациенток при данном состоянии может приводить к увеличению материнской заболеваемости и смертности [22, 70, 203]. Известно, что 30% женщин в мире с АМК страдают анемией [216].

В РФ встречаемость АМК у женщин репродуктивного возраста колеблется от 10 до 30%, однако, по мнению некоторых ученых данная цифра может включать в себя большее количество пациенток, так как представленный диапазон зависит от того, как женщины оценивают объем кровопотери, а также от различных социокультурных факторов [10, 99]. Недавние опросы, основанные на анкетировании, показали, что одни только ОМК могут быть распространены более чем у 50% женщин репродуктивного возраста, что ставит под сомнение мировую статистику [193]. Учитывая широкую распространенность АМК у женщин репродуктивного возраста, а по мировым данным треть пациенток хотя бы раз в жизни сталкиваются с симптомами АМК [36, 202], возникает необходимость в понимании механизмов, лежащих в основе развития АМК для обоснованного патогенетического лечения, а также в определении факторов риска и предикторов рецидивов для своевременного прогнозирования и профилактики данного состояния.

Во Всемирном атласе по ожирению на 2023 год прогнозируется, что глобальное экономическое воздействие избыточного веса и ожирения достигнет 4,32 трлн долларов ежегодно к 2035 году, если меры профилактики и лечения не будут улучшены, что сопоставимо с последствиями COVID-19 в 2020 году. В связи с этим ожирение признается пандемией 21 века [53, 61]. По прогнозам к 2035 году большая часть населения планеты (51,0%, или более 4 миллиардов человек) будет жить либо с избыточным весом, либо с ожирением при сохранении нынешних тенденций. Один из четырех человек (почти 2 миллиарда) будет страдать ожирением [217]. В России распространенность ожирения составляет 27,5% среди мужчин и 31,4% среди женщин [11, 162].

Когда рассматривается взаимосвязь АМК и ожирения, становится ясно, что эти два состояния могут взаимодействовать друг с другом. Ожирение может увеличить риск развития АМК, а также усугубить их течение. Оба эти фактора, АМК и ожирение, имеют свои собственные патофизиологические механизмы, но их взаимодействие может усиливать симптомы и осложнения. Это делает женщин с сочетанием этих двух состояний особенно уязвимыми и требующими

специализированного внимания и ухода. Особенно интересным и актуальным на сегодняшний день является определение роли ожирения в развитии дисфункции эндометрия у женщин с АМК-Е, поскольку данная категория составляет порядка 50% всех случаев АМК, а патогенетические механизмы их формирования до конца не определены [158].

Представленные данные еще раз подчеркивают актуальность выбранной темы исследования и ее соответствие современным тенденциям в медицинской науке. Целью нашего исследования явилось улучшение исходов лечения АМК у пациенток репродуктивного возраста, страдающих ожирением. Для решения поставленной цели была проведена оценка структуры причин АМК у женщин с ожирением, определены клинико-anamnestические особенности женщин с АМК и ожирением, а также клинико-anamnestические факторы риска рецидивов АМК у женщин с ожирением, проведен анализ встречаемости полиморфизмов генов, отвечающих за ангиогенез, гипоксию и воспаление и их роль в реализации рецидивов АМК при ожирении, изучены патоморфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия у женщин с АМК-Е и ожирением.

На первом (ретроспективном) этапе исследования было выявлено увеличение доли АМК среди пациенток репродуктивного возраста, госпитализированных в гинекологический стационар, которая составила 20,4% на 2019 год, что выше в сравнение с 2018 годом (17,0%) [7]. В результате анализа структуры причин АМК у женщин в репродуктивном возрасте (n=632) нами было обнаружено, что лидирующее место в структуре причин занимает гиперплазия эндометрия (33,7%), второе место – эндометриальные причины (25,9%) и третье место – полип тела матки (23,3%), что контраверсионно мнению Reavey J.J. et al. (2021) о 50% случаев АМК, связанных с эндометриальными причинами (АМК-Е) [158]. Однако учитывая тот факт, что часть пациенток с АМК не обращаются за медицинской помощью или обращаются с симптомами ОМК в поликлинические учреждения, результаты нашего исследования не могут отражать полную картину всех причин АМК. С целью определения особенностей структуры причин АМК в

репродуктивном возрасте у женщин с ожирением женщины были стратифицированы на две группы в зависимости от ИМТ. Объектом исследования основной группы были 360 пациенток с АМК, имеющих ИМТ выше 30 кг/м<sup>2</sup>, в группу сравнения были включены 272 пациентки с ИМТ 18,5-24,9 кг/м<sup>2</sup>. Несмотря на то, что ожирение заслуженно рассматривают как фактор риска ГЭ, сравнительный анализ структуры причин АМК у пациенток с ожирением и нормовесных не выявил значимых отличий ( $p>0,05$ ), в обеих группах АМК-М занимали первое место (34,2% и 33,1%). Однако дисфункция эндометрия значимо больше была представлена среди пациенток с АМК и ожирением (31,7% против 18,4%,  $p<0,001$ ), что созвучно с результатами Nouri M. et al. (2014) [149]. В то же время встречаемость аденомиоза как причины АМК была в 2,9 раз выше в группе нормовесных (2,8% против 8,1%), что не согласуется с результатом работ Ates S. et al. (2022) и Hanson F.K. et al. (2020), в которых аденомиоз встречался чаще у женщин с ожирением [52, 113].

Таким образом, первый этап исследования подтверждает гипотезу возможной роли ожирения в реализации АМК-Е. Предположение о том, что ожирение как инициатор хронического системного воспалительного процесса в организме, способно приводить к формированию провосполительного профиля в эндометрии и нарушению его функциональной активности, тем самым замедляя регенерацию эндометрия во время маточного кровотечения, может рассматриваться как один из путей патогенеза АМК-Е при ожирении.

На втором (проспективном) этапе согласно намеченному плану исследования были включены пациентки репродуктивного возраста с АМК ( $n=159$ ), которые как и на первом этапе исследования были стратифицированы на две группы в зависимости от наличия/отсутствия ожирения: I группа – женщины с ИМТ выше 30 кг/м<sup>2</sup> ( $n=84$ ), II группа - нормовесные с ИМТ 18,5-24,9 кг/м<sup>2</sup> ( $n=75$ ). Было выявлено, что в группе с ожирением было значимо выше количество курящих женщин ( $p<0,001$ ), количество женщин с сопутствующими соматическими патологиями, такими как гипертоническая болезнь ( $p=0,037$ ) и варикозная болезнь вен нижних конечностей ( $p=0,041$ ), что может быть обусловлено влиянием

избыточной массы тела и вызванной на фоне хронического латентного воспаления эндотелиальной дисфункцией, которая рассматривается Kwaifa I.K. et al. (2020), как один из возможных путей патогенеза данных экстрагенитальных заболеваний [82]. Напротив, исследование Hui Xu et al. (2018) в своем исследовании отметили, что именно нарушение менструального цикла, в частности длительное менструальное кровотечение, связано с увеличением случаев артериальной гипертензии и данная взаимосвязь усугубляется ожирением [156]. Также у женщин с АМК и ожирением значимо чаще встречается анемия ( $p=0,018$ ), что объяснимо синергизмом действия двух патологий. Согласно мировым источникам АМК связаны с повышенным железodefицитом и анемизацией пациенток [211] и в свою очередь ожирение за счет персистирующего субклинического воспаления приводит к повышению уровня гепсидина, снижению всасывания железа и, как следствие, к ЖДА [58, 181]. Оценка наследственного анамнеза показала, что родственники пациенток с АМК и ожирением значимо чаще страдали сердечно-сосудистыми заболеваниями ( $p<0,001$ ), ожирением ( $p<0,001$ ) и заболеваниями органов репродуктивной системы ( $p=0,043$ ). Особенностью менструальной функции являлись более длительные ( $p=0,039$ ) и обильные ( $p<0,001$ ) менструации в группе с ожирением, что совпадает с результатами Reavey J.J. et al. (2021) о негативном влиянии ожирения на возникновение ОМК [158].

В ходе проведенного исследования было установлено, что количество женщин в группе с ожирением, имеющих в анамнезе ВЗОМТ было значимо выше ( $p=0,041$ ), что может быть обусловлено наибольшей восприимчивостью к инфекционным процессам ввиду нарушений как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций и дефицитом витамина D [153]. Сравнение исходов беременностей показало, что в группе нормовесных самопроизвольные выкидыши встречались реже в сравнении с пациентками с ожирением ( $p=0,02$ ), что согласуется с результатами систематического обзора, где одним из описанных механизмов самопроизвольных выкидышей является нарушение восприимчивости эндометрия на фоне хронического латентного воспаления [155]. Напротив,

исследование Setton R. и соавт. (2020) не выявило значимых различий в частоте имплантации и вынашивания беременности у пациенток с ожирением [54].

С целью определения клинико-анамнестических факторов риска рецидива АМК у женщин с ожирением, когорта пациенток с ожирением ( $n=84$ ), была стратифицирована на две группы: первая группа включала женщин с рецидивами АМК ( $n=38$ ), вторая группа – женщины с впервые возникшим эпизодом АМК ( $n=46$ ). Средний возраст пациенток с впервые возникшим эпизодом АМК был практически на два года меньше в сравнении с пациентками группы рецидива АМК ( $p<0,001$ ). При сравнении антрометрических показателей несмотря на то, что обе группы включали женщин с ожирением, масса тела в первой группе была на 13 кг выше, чем у женщин с впервые возникшим эпизодом ( $p=0,014$ ). Данные подтверждают тем, что доля пациенток с морбидным ожирением в первой группе было значимо выше, чем во второй, что делает его одним из факторов риска рецидивов АМК (ОШ=4,5; 95% ДИ: 1,6–12,6,  $p=0,004$ ). Это соотносится с исследованием Schaffrath S.F.G. et al. (2019), которые отметили, что у женщин с более высоким ИМТ количество рецидивов АМК выше в сравнении с женщинами с нормальной массой тела [174]. Напротив, в данном исследовании не нашли подтверждения роли курения в повышении риска рецидивов АМК, в то время как в нашем исследовании шансы рецидивов у курящих пациенток увеличивались в 2,9 раз (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,1–7,6,  $p=0,038$ ).

В ходе исследования было выявлено, что сердечно-сосудистые заболевания, в частности гипертоническая болезнь и варикозная болезнь вен нижних конечностей увеличивала шансы рецидивов АМК в 3,5 (ОШ=3,5; 95% ДИ: 1,3–9,4) и в 3,8 раз (ОШ=3,8; 95% ДИ: 1,2–12) соответственно, что схоже с исследованиями Kocavska A. et al. (2021) и Vaidya R. et al. (2022), где выделяли наличие гипертонической болезни как один из факторов риска АМК и их рецидивов у женщин с ожирением [121, 169].

В нескольких исследованиях было отмечено, что длительные и обильные менструации могут рассматриваться, как фактор риска рецидивов АМК [169, 174]. В настоящем исследовании в группе рецидивов большинство пациенток отмечали

обильные менструации, что значимо превышало аналогичный показатель у женщин с первым эпизодом АМК. Это сопряжено с увеличением шансов рецидива АМК при обильных менструациях в 3,2 раза (ОШ=3,2; 95% ДИ: 1,3–7,9). Учитывая субъективизм оценки объема менструальной кровопотери, был проведен анализ количества используемых средств гигиены и их степень защиты во время менструального кровотечения, который показал, что женщины обеих групп используют одинаковое количество средств гигиены в день, однако степень их защиты была значимо выше у женщин с рецидивами АМК ( $p=0,006$ ).

АМК являются одним из клинических проявлений ВЗОМТ в острую фазу [68]. В ходе нашей работы было выявлено, что шанс рецидива АМК увеличивается в 3,8 раз (ОШ=3,8; 95% ДИ: 1,2–12,0) при наличии в анамнезе ВЗОМТ. Есть вероятность, что хронизация воспалительного процесса приводит к нарушению функциональной активности эндометрия и его способности к восстановлению.

Наличие родов в анамнезе является защитным фактором рецидивов АМК и снижает шанс их развития в 2,5 раза (ОШ=2,5; 95% ДИ: 1,1–6,3), что контраверсионно с исследованием Schaffrath S.F.G. et al. (2019), которые отмечали большее число родов в группе с рецидивами АМК [174]. В то же время наличие неразвивающейся беременности в анамнезе повышает шансы развития рецидивов в 8,4 раза (ОШ=8,4; 95% ДИ: 1,0–73,5).

Согласно имеющимся данным одной из возможных причин АМК, вызванных дисфункцией эндометрия, является дефект гипоксической ответа, который ограничен перименструальной фазой в эндометрии [131]. Для реализации этих нарушений должны создаваться определенные условия, приводящие к стойкой гипоксии в ткани эндометрия или, напротив, ее недостаточной активации [103]. Одним из таких условий является чрезмерная воспалительная реакция и активация патологического неоангиогенеза в эндометрии. Учитывая тот факт, что в настоящая работа включала пациенток с ожирением, есть вероятность того, что системное низкоуровневое воспаление, которое присутствует у всех пациентов с ожирением, может затрагивать эндометриальную ткань и приводить к потере его функциональных свойств. Для доказательства данной гипотезы нами были

рассмотрены генетические стороны этого предположения, а также изучены патоморфологические и иммуногистохимические свойства эндометрия у женщин с АМК, вызванные дисфункцией эндометрия.

Изучена встречаемость полиморфизма генов, отвечающих за ангиогенез, гипоксию и воспаление в группах с АМК и ожирением и у нормовесных с АМК. Для достоверности результатов использовали группу генетического контроля, включающую женщин репродуктивного возраста без АМК. Также мы провели сравнение и рассчитали шансы рецидивов АМК у женщин с ожирением при носительстве значимого полиморфизма генов.

В исследовании Мелкозеровой О.А. и соавт. (2016) была определена роль полиморфизма гена *eNOS* в развитии эндотелиальной дисфункции у девочек с АМК. Согласно их данным, частота встречаемости аллеля *C* гена *NOS3 786T>C* значительно выше у девочек с АМК, которые также страдали синдромом задержки развития плода [16]. В новых исследованиях отмечается, что присутствие аллеля *C* в промоторе гена *786T>C NOS3* связано с уменьшением активности *eNOS* в тканях. Это приводит к уменьшению синтеза и высвобождения *NO*, что в итоге определяет развитие синдрома эндотелиальной дисфункции [128]. Этот же механизм также рассматривается в развитии преэклампсии при носительстве данного полиморфизма [41]. В данном исследовании было обнаружено, что генотип *TC* по *eNOS T786C [rs2070744]* встречался значимо чаще у женщин с АМК и ожирением в сравнении с нормовесными и АМК и контрольной группой ( $p=0,04$ ). При сравнении частоты встречаемости в группе с рецидивами АМК и с впервые возникшем случае АМК также были выявлены значимые различия по носительству генотипа *TC*, который был выше в группе женщин с рецидивами АМК и увеличивал шансы развития рецидивов АМК в 2,9 раз (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,1–7,6) ( $p=0,038$ ). Таким образом, можно предположить, что у женщин с ожирением в основе развития АМК может лежать эндотелиальная дисфункция, обусловленная снижением активности *eNOS*.

VEGF играет ключевую роль в активации функций эндотелиальных клеток (ЭК), участвуя на всех этапах процесса ангиогенеза, включая миграцию и

пролиферацию ЭК. Определение экспрессии VEGF-A способно отражать адекватный ангиогенез. Предполагается, что VEGF-A способствует регенерации спиральных артериол, которые могут быть повреждены во время менструации [138]. Одним из возможных механизмов является его способность стимулировать выработку NO под действием eNOS [77]. Kaygusuz I. et al. (2022) в своей работе утверждают, что полиморфизмы *VEGF* - 2578C > A и - 1154G > A достоверно связаны с риском ОМК [117]. Мы изучили частоту полиморфизма генов *VEGF-A C2578A* и *VEGF-A G-634C* у женщин с АМК и ожирением в сравнении с нормовесными и контрольной группой, а также у женщин с рецидивами АМК и ожирением и женщин с впервые возникшим эпизодом АМК и ожирением. Как показали результаты генотип *CA* по *VEGF-A C2578A* встречался в равной степени между пациентками с АМК и ожирением и нормовесными, однако при сравнении с контрольной группой его встречаемость была значимо выше ( $p < 0,005$ ), что ассоциирует гетерозиготный генотип с рисками развития АМК в целом. Напротив, распространенность генотипа *AA* была выше в контрольной группе в сравнении с основными ( $p < 0,002$ ). Генотип *CA* по *VEGF-A C2578A* присутствовал в большем проценте случаев у женщин с рецидивами АМК и ожирением, в результате чего было рассчитано, что носительство данного генотипа увеличивает шансы рецидивов АМК у женщин с ожирением в 2,9 раз (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,2–7) ( $p = 0,028$ ). При сравнительной оценке встречаемости полиморфизмов гена *VEGF-A G-634C* значимых отличий обнаружено не было, как в группах АМК с ожирением и нормовесных, так и в группах с рецидивами АМК и ожирением и с впервые возникшим эпизодом АМК и ожирением [6].

Как упоминалось выше, одним из условий для остановки маточного кровотечения является своевременная гипоксия в ткани эндометрия. Исследование Maubin J.A. et al. (2018) обнаружило, что у женщин с клинически подтвержденными ОМК во время менструального кровотечения уровень транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  в эндометрии снижался, как и его нижестоящие мишени VEGF и CXCR4, по сравнению с женщинами, у которых менструальное кровотечение было в норме, что свидетельствует о нарушении

гипоксического ответа [103]. Под воздействием гипоксии HIF-1 $\alpha$  может вступать во взаимодействие с чувствительными к гипоксии участками различных генов, включая VEGF-A. Этот процесс активирует путь HIF-1 $\alpha$ /VEGF, который является ключевым механизмом в ангиогенезе [126]. В настоящем исследовании изучена встречаемость полиморфизма гена *HIF1 $\alpha$  C1772T* и его роль в реализации рецидивов АМК. При сравнении женщин с АМК и ожирением с нормовесными было выявлено, что в группе с ожирением значимо чаще встречался генотип *CT* в отличие от группы с нормальной массой тела ( $p=0,002$ ), однако, при сравнении с контрольной группой встречаемость данного генотипа значимо не различалась ( $p=1,000$ ). Исходя из этого, можно предположить, что только лишь наличие полиморфизма не играет роли в возникновение АМК, однако присутствие сопутствующих факторов вместе с наличием данного полиморфного варианта может создавать условия для их реализации. Подобная картина наблюдалась при сравнении групп с рецидивами АМК и впервые возникшим эпизодом АМК. Статистически значимая разница наблюдалась лишь между основными группами как при сравнении распространенности генотипа *CC* ( $p=0,019$ ), так и генотипа *CT* ( $p=0,014$ ), с контрольной группой значимых отличий выявлено не было ( $p>0,05$ ).

Удивительные данные были получены при изучении распространенности полиморфизма гена *IL6 C174G*. Латентное низкоуровневое воспаление у женщин с ожирением, может быть одной из причин формирования чрезмерного воспаления в эндометрии. Мы предположили, что генетические механизмы могут лежать в реализации данной взаимосвязи, однако встречаемость всех вариантов генотипов данного полиморфизма была одинакова в группах с ожирением и нормовесными. Напротив, в контрольной группе без АМК встречаемость генотипа *CC* была значимо ниже, чем в двух основных группах ( $p<0,001$ ), а распространенность генотипа *AA* была значимо выше ( $p<0,001$ ).

На сегодняшний день многие исследования рассматривают ожирением, как один из факторов риска гиперплазии и рака эндометрия, одной из структурных причин АМК (АМК-М) [152, 161, 220]. Данное исследование противоречит этому утверждению, поскольку при проведенном проспективном сравнении структуры

причин АМК у женщин с ожирением и без такового, а также в ретроспективном исследовании на большей выборке пациенток, не было выявлено значимых различий в удельном весе гиперплазии эндометрия между сравниваемыми группами ( $p > 0,05$ ), однако в структуре причин АМК она занимала первое место в обеих группах. В свою очередь у женщин с ожирением значимо чаще встречалась нормальная структура эндометрия по результатам гистологического заключения ( $p = 0,026$ ) [20]. Полип тела матки встречался в два реже в группе женщин с ожирением в сравнении с нормовесными ( $p = 0,013$ ), что также контраверсионно с данными исследований Vitale S.G. et al. (2021) и Rasool S. et al. (2022) [80, 205], которые утверждают о наличии высокого риска возникновения полипов тела матки при ожирении. Полученные данные относительно встречаемости полипов тела матки могут быть обусловлены не достаточной выборкой пациенток, поскольку на ретроспективно этапе, который включал большее количество пациенток, различий в частоте встречаемости полипа эндометрия между сравниваемыми группами не зарегистрировано ( $p = 0,129$ ).

Нами была проведена сравнительная оценка структуры причин АМК среди групп с повторными эпизодами АМК и ожирением, и впервые возникшим эпизодом АМК и ожирением. Данное сравнение продемонстрировало, что лидирующей причиной как в группе с рецидивами АМК, так и с первичным эпизодом занимала гиперплазия эндометрия, однако значимых различий в частоте ее встречаемости при межгрупповом сравнении зарегистрировано не было ( $p = 0,036$ ). Рецидивирующий характер АМК при ожирении значимо чаще протекал на фоне фазы десквамации и нормальной структуры эндометрия ( $p = 0,002$ ), в то время как впервые возникшие эпизоды АМК значимо чаще определялись полипами эндометрия ( $p = 0,511$ ).

Учитывая частоту встречаемости нормальной структуры эндометрия по результатам патоморфологического исследования и процент случаев АМК-Е в структуре всех причин АМК у женщин с ожирением актуальным остается выявление патогенетических механизмов, лежащих в основе формирования дисфункции эндометрия и как следствие ее проявлений в виде АМК. Контроль

маточного кровотечения осуществляется за счет различных механизмов, включающих соответствующую воспалительную реакцию, адекватный ангиогенез и гипоксический ответ, вазоконстрикцию, гемостаз и своевременную регенерацию эндометрия [1]. Существует некое взаимодействие между данными процессами и нарушение одного может повлечь за собой другие звенья механизма, что приводит к соответствующим проявлениям. Ожирение в свою очередь может влиять на данные механизмы, являясь инициатором провоспалительной среды во всем организме в целом и в эндометрии в частности.

В доклиническом исследовании Reavey J.J. et al. (2021) было отмечено, что у мышей, находящихся на диете с высоким содержанием жира, в эндометрии была значительно повышена концентрация провоспалительных цитокинов и в то же время была замедлена пролиферация эпителиальных клеток [158]. Чрезмерная воспалительная реакция в эндометрии может приводить к срыву компенсаторных механизмов, участвующих в ангиогенезе и формированию патологического неоангиогенеза [82]. В данной работе была изучена экспрессия эндотелиальных факторов CD34+ и eNOS в эндометрии женщин с АМК-Е и впервые проведено сравнение площади экспрессии данных факторов у женщин с ожирением и у пациенток с нормальной массой тела [23]. Повышенная активность ключевого медиатора сосудистой функции, VEGF-A, а также рецепторов VEGF 1 и 2 в эндометрии, играет роль в нарушении созревания спиральных артериол и увеличении их диаметра у пациенток с ОМК. Этот процесс, осуществляемый через регуляцию работы eNOS и синтеза NO, который расширяет сосуды, увеличивает проницаемость эндотелиальных клеток и ускоряет ангиогенез, что является важным процессом в обеспечении кровоснабжения и регенерации тканей [36]. В отличие от этого, исследование, проведенное Maubin J.A. et al. (2018), не выявило различий в уровнях VEGF как в пролиферативной, так и в секреторной фазах менструального цикла. Однако, наблюдалось снижение уровней HIF-1 $\alpha$  и VEGF во время менструации у женщин с АМК-Е по сравнению с контрольной группой [103]. Используя ИГХ и морфометрический метод мы в своем исследовании определили повышенный уровень экспрессии eNOS в эндометрии женщин с АМК-Е в

сравнении с нормовесными и контрольной группой ( $p < 0,001$ ). Аналогичные результаты были получены при оценке площади экспрессии CD34+, которая была практически в 1,5 раза выше у группы с ожирением в сравнении с нормовесными ( $p = 0,03$ ) и в 5 раз выше в сравнении с группой морфологического контроля ( $p < 0,001$ ) [23].

В литературе отсутствуют данные о характере экспрессии данных маркеров у когорты пациенток с АМК-Е и ожирением, однако у женщин с ОМК, которые имеют общий патогенез с АМК-Е, также была отмечена повышенная экспрессия маркера эндотелиальных клеток CD34+ в эндометрии [81]. А Harmsen M.J. и его коллеги в исследовании 2019 года выявили у женщин с аденомиозом увеличенную экспрессию проангиогенных факторов, включая CD34+, сделав вывод, что повышенный ангиогенез способствует хрупкости и увеличению проницаемости сосудов, что, в свою очередь, может привести к аномальным маточным кровотечениям [179], что соотносится с результатами настоящего исследования.

С целью определения роли ангиогенных факторов в нарушении регенерации и восстановления эндометрия у женщин с ожирением при АМК-Е, нами впервые была исследована экспрессия транскрипционного фактора ARID1a в изучаемой когорте пациенток. Ранее данный фактор ассоциировался с неудачами имплантации, в доклиническом исследовании было продемонстрировано, что удаление маточного ARID1a у мышей вызывает бесплодие из-за дефектов имплантации, децидуализации и повышенной патологической пролиферации эпителия [37]. Также ARID1a рассматривается как онкосупрессор, участвующий в подавлении прогрессирования онкологических процессов в том числе и в эндометрии [64]. В нашей работе отмечалась повышенная экспрессия ARID1a в железистом компартменте у пациенток с АМК-Е и ожирением в сравнении с нормовесными и контрольной группой ( $p < 0,03$ ). В стромальном компоненте было отмечено значимое увеличение экспрессии данного белка в обеих основных группах в сравнении с контрольной ( $p < 0,001$ ). Внутри основных групп значимое отличие в экспрессии ARID1a не обнаружено ( $p = 0,998$ ).

С целью определения роли эндотелиального маркера CD34+ и eNOS и транскрипционного фактора ARID1a в реализации рецидивов АМК у женщин с ожирением, было проведено сравнение площади экспрессии данных факторов в эндометрии у женщин с ожирением с рецидивами АМК и с первичным эпизодом. Полученные результаты демонстрируют повышенный уровень экспрессии ARID1a в группе с рецидивирующим течением АМК в сравнении с впервые возникшим эпизодом и контрольной группой ( $p < 0,03$ ). Кроме того, было выявлено, что при значении экспрессии ARID1a в железах  $\geq 15,6\%$  прогнозировался риск рецидива АМК при ожирении с чувствительностью – 88,9% и специфичностью – 81,8% ( $p = 0,004$ ). Следовательно, выраженная экспрессия данного маркера в железистом компартменте эндометрия может быть характерной особенностью АМК, вызванных дисфункцией эндометрия. Вместе с тем интересные данные были получены при оценке уровня экспрессии CD34+, которая была выше в 1,5 раза в группе с повторными эпизодами АМК в сравнении с группой с впервые возникшим эпизодом и в 6 раз выше при сравнении с контрольной группой ( $p < 0,02$ ). Прогностическая ценность данного маркера в реализации рецидивов такова, что при площади его экспрессии  $\geq 2,4\%$  прогнозировался риск рецидива АМК при ожирении с высокой чувствительностью (88,9%) и специфичностью (81,8%) ( $p = 0,002$ ). Аналогичные результаты были получены при оценки площади экспрессии eNOS в эндометрии в исследуемых группах, где отмечалось ее значимое увеличение при рецидивирующем характере течения АМК в сравнении с однократным эпизодом и группой морфологического контроля ( $p < 0,005$ ), высокий прогноз рецидивов АМК отмечался при площади экспрессии eNOS  $\geq 9,65\%$  (чувствительность – 77,8%, специфичность – 90,9%) ( $p = 0,006$ ).

Для расширения представлений о механизме действия CD34+ и eNOS при АМК-Е у женщин с ожирением, был проведен корреляционный анализ между площадью экспрессии данных маркеров ангиогенеза и пролиферативного маркера ARID1a. В ходе исследования были обнаружены прямые положительные связи между гиперсекрецией CD34+ и eNOS и гиперсекрецией ARID1a в железах. Также отмечалась положительная связь между маркерами ангиогенеза, что объясняет

синергизм их действия в реализации АМК-Е. На основании этого был предложен один из патогенетических путей АМК-Е при ожирении, который заключается в активации чрезмерной воспалительной реакции в эндометрии за счет системного низкоуровневого воспаления при ожирении, приводящей к патологической активации неоангиогенеза, под действием которого формируется дефект гипоксической реакции в ткани эндометрия тем самым замедляя его регенерацию и восстановление [23].

Не менее важную роль в реализации данного механизма может играть генетический фактор. В процессе данной работы была изучена площадь экспрессии каждого ИГХ маркера в зависимости от носительства полиморфных вариантов изучаемых генов. Значимая площадь экспрессии eNOS отмечалась при носительстве гетерозиготного генотипа по *eNOS T786C*, которая была в два раза выше по сравнению с отсутствием данного варианта полиморфизма ( $p=0,009$ ), а также при носительстве генотипа *CA* по *VEGF-A C2578A [rs699947]* ( $p=0,021$ ). Несмотря на то, что при носительстве вышеперечисленных полиморфизмов отмечался высокий уровень экспрессии eNOS, есть вероятность, что функциональная активность данного белка может быть снижена, что приводит к соответствующим клиническим проявлениям.

Для определения вероятности наступления рецидивов АМК у женщин с ожирением, исходя из полученных результатов настоящего исследования, методом бинарной логистической регрессии была разработана прогностическая модель. Предикторами, обладающие наибольшей прогностической способностью, явились наличие ВЗОМТ в анамнезе (ОШ=5,7; 95% ДИ: 1,3–26,4), курение (ОШ=5,0; 95% ДИ: 1,4–18,2), длительности менструации более 6 дней (ОШ=2,3; 95% ДИ: 1,4–3,7), степень защиты используемых гигиенических средств  $\geq 6$  (ОШ=1,9; 95% ДИ: 1,1–3,4), окружность талии  $> 102,5$  см (ОШ=1,04; 95% ДИ: 1,01–1,07), носительство генотипа *TC* по *eNOS* (ОШ=2,3; 95% ДИ: 1,01–6,8), носительство генотипа *CA* по *VEGF-A* (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,18–7), уровень экспрессии CD34+ в строме эндометрии  $\geq 2,4\%$  (ОШ=6,5; 95% ДИ: 1,6–28,4) и уровень экспрессии eNOS в строме эндометрия  $\geq 9,65\%$  (ОШ=2,1; 95% ДИ: 1,1–4,4).

Систематизация результатов, полученных на всех этапах исследования, позволила создать и предложить модифицированный алгоритм выбора тактики лечения женщин с АМК при наличии ожирения. Этот алгоритм базируется на стратификации пациенток в зависимости от их персонального риска рецидивов АМК. Также были разработаны инструменты для прогнозирования персонального риска рецидивов АМК - Модель 1, основанная только на клинических и анамнестических предикторах с чувствительностью и специфичностью 81,6% и 80,4% соответственно, диагностическая эффективность – 82,1%, Модель 2, включающая клиничко-анамнестические и молекулярно-генетические предикторы (чувствительность - 86,8%, специфичность - 80,4%, диагностическая эффективность 84,5%) и Модель 3, основанная на морфофункциональных свойствах эндометрия с чувствительностью и специфичностью – 90,0% и 90,9% соответственно, диагностическая эффективность 90,0%.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показывают, что АМК в настоящее время занимают лидирующее место в структуре причин госпитализаций женщин в ургентный гинекологический стационар. Ожирение, согласно современной парадигме, рассматривается как возможный фактор риска АМК. Ввиду тенденции роста численности населения, страдающего ожирением, увеличивается и доля женщин, страдающих АМК. Все это представляет в настоящем серьезную проблему, как для системы здравоохранения, так и для общества, поскольку в репродуктивном возрасте АМК служат одной из причин анемизирующего синдрома.

В результате проведенного исследования выявлены клинические и анамнестические особенности когорты пациенток с АМК и ожирением, а также клиничко-анамнестические, молекулярно-генетические и ИГХ предикторы риска рецидивов АМК у женщин с ожирением. Выявлена патогенетически значимая взаимосвязь ожирения и дисфункции эндометрия, которая проявляется АМК. В процессе патоморфологического исследования были обнаружены особенности морфологии и функциональной активности эндометрия у женщин, страдающих АМК-Е и ожирением. Также были выявлены предикторы, которые предрасполагают к повторным эпизодам АМК. Понимание патогенеза АМК-Е при ожирении значительно расширено, причем основными факторами здесь являются патологическая активация неоангиогенеза, подтвержденная гиперсекрецией CD34+ и eNOS и замедленный процесс регенерации и восстановления поврежденного эндометрия, обоснованный гиперсекрецией ARID1a.

Разработан и предложен для практического применения алгоритм дифференцированного выбора тактики ведения пациенток с АМК и ожирением, который позволяет выделить группу риска рецидивов АМК и обосновать необходимость углубленного обследования женщин и соответствующую терапию и профилактику. Для практического применения разработан и предложен алгоритм индивидуализированного подхода и тактики ведения пациенток с АМК и

ожирением, позволяющий определить группу риска рецидивов АМК и аргументировать необходимость дополнительного обследования женщин. Это важный шаг в повышении качества медицинской помощи и улучшении результатов лечения и профилактики у данной категории пациенток.

Полученные результаты позволяют сделать следующие **выводы**:

1. В структуре причин АМК у женщин репродуктивного возраста гиперплазия эндометрия составляет 33,7%, дисфункция эндометрия - 25,9%, полип тела матки - 23,3%, «прочие» - 17,1%. Особенность пациенток с ожирением в сравнении с нормовесными ( $p < 0,01$ ) - более высокий удельный вес АМК, обусловленных дисфункцией эндометрия (31,7% против 18,4%) и более низкий - АМК, связанных с аденомиозом (2,8% против 8,1%).

2. Изучаемую когорту формируют женщины преимущественно позднего репродуктивного возраста (в среднем -  $35,7 \pm 0,8$  лет,  $p = 0,829$ ). В сравнении с нормовесными они значимо чаще курят (соответственно 66,7% против 29,3%,  $p < 0,001$ ) и чаще ( $p < 0,05$ ) страдают хроническими экстрагенитальными заболеваниями (43,5% против 25,7%), в том числе анемией (42,9% против 24,0%) и болезнями системы кровообращения (38,1% против 28,3%), включая артериальную гипертензию (28,6% против 14,7%) и варикозную болезнь вен нижних конечностей (20,2% против 8,0%). При идентичной доле рожавших (61,9%,  $p = 1,00$ ) пациентки репродуктивного возраста с АМК и ожирением чаще, чем нормовесные ( $p < 0,05$ ), имеют в анамнезе указания на абдоминальное родоразрешение (25,0% против 12,0%), ВЗОМТ (20,2% против 8,1%), самопроизвольные выкидыши (20,2% против 6,7%), а также прерывание хирургическим методом нежеланной (92,9% против 55,0%) и патологически протекающей беременности (100% против 40,0%). Клинически для них характерны ( $p < 0,05$ ) более обильные (56,0% против 28,0% у нормовесных) и более длительные [6 дней ( $Q_1-Q_3$ : 5-7) против 5 дней ( $Q_1-Q_3$ : 5-6),  $p = 0,039$ ] менструации, они используют гигиенические средства большей степени защиты [6 ( $Q_1-Q_3$ : 4-6) против 4 ( $Q_1-Q_3$ : 4-5)] и чаще вынуждены менять их в ночное время (47,6% против 25,3%).

3. Клинико-анамнестическими факторами риска рецидивов АМК у женщин репродуктивного возраста с ожирением следует считать: неразвивающуюся беременность (ОШ=8,4; 95% ДИ: 1,0–73,5) и ВЗОМТ в анамнезе (ОШ=3,8; 95% ДИ: 1,2–12,0), обильные менструации (ОШ=3,2; 95% ДИ: 1,3–7,9), использование гигиенических средств со степенью защиты  $\geq 6$  (чувствительность – 63,2%, специфичность – 58,7%) и отсутствие родов (ОШ=2,5; 95% ДИ: 1,1–6,3), а также ИМТ  $\geq 40$  кг/м<sup>2</sup> (ОШ=4,5; 95% ДИ: 1,6–12,6), болезни системы кровообращения (ОШ=3,9; 95% ДИ: 1,6–10,0), варикозное расширение вен нижних конечностей (ОШ=3,8; 95% ДИ: 1,2–12), артериальную гипертензию (ОШ=3,5; 95% ДИ: 1,3–9,4) и курение (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,1–7,6).

4. В когорте пациенток с АМК и ожирением значимо чаще, чем у нормовесных ( $p < 0,05$ ), встречается носительство гетерозиготного генотипа *TC* по полиморфному локусу *eNOS T786C* (66,7% против 49,3%) и гетерозиготного генотипа *CT* по полиморфному локусу *HIF1a C1772T* (20,2% против 6,7%), что позволяет предположить участие в патогенезе АМК генетических детерминант дефекта гипоксического ответа. Значимо более высокая ( $p < 0,01$ ) частота встречаемости среди пациенток с АМК и ожирением гетерозиготных генотипов по полиморфным локусам *VEGF-A G-634C* (*GC* - 47,6%; *CC* - 8,3%), *IL6 C174G* (*CG* - 26,2%; *GG* - 3,6%); *ESR1* (*GA* - 26,2%; *AA* - 5,9%) и *PPAR-G G482A* (*GA* - 36,9%; *AA* - 17,9%) свидетельствует о генетической детерминированности нарушений контроля за воспалением и патологической активации неоангиогенеза в ткани эндометрия.

5. Достоверными ( $p < 0,05$ ) отличиями экспрессии маркеров ангиогенеза и пролиферации в эндометрии пациенток репродуктивного возраста с АМК и ожирением в сравнении с нормовесными являются: более высокая экспрессия *ARID1a* в железах ( $16,9 \pm 1,1\%$ ; 95% ДИ: 14,7–19,1 против  $13,1 \pm 0,9\%$ ; 95% ДИ: 11,2–15; морфологический контроль -  $12,8\% \pm 0,4\%$ ; 95% ДИ: 11,8–13,8), а также более высокая экспрессия в строме *CD34+* ( $2,5 \pm 0,2\%$ ; 95% ДИ: 2,1–2,8 против  $1,8 \pm 0,2\%$ ; 95% ДИ: 1,5–2,2; контроль -  $0,5 \pm 0,1\%$ ; 95% ДИ: 0,4–0,6) и *eNOS* ( $8,7 \pm$

0,6%; 95% ДИ: 7,3–10,0 против  $4,0 \pm 0,5\%$ ; 95% ДИ: 3,0–5,0; контроль -  $1,3 \pm 0,2\%$ ; 95% ДИ: 0,9–1,7).

6. Достоверными отличиями ( $p < 0,05$ ) экспрессии маркеров ангиогенеза и пролиферации в эндометрии пациенток репродуктивного возраста с ожирением при рецидивах АМК в сравнении с первым эпизодом следует считать: повышение экспрессии ARID1a в железах ( $19,2 \pm 1,1\%$ ; 95% ДИ: 16,6–21,7 против  $15,0 \pm 1,1\%$ ; 95% ДИ: 16,6–21,7) и CD34+ в строме (соответственно  $3,1 \pm 0,2\%$ ; 95% ДИ: 2,6–3,6 против  $2,0 \pm 0,1\%$ ; 95% ДИ: 1,8–2,3), а также более высокую стромальную экспрессию eNOS ( $10,8 \pm 0,76\%$ ; 95% ДИ: 9,0–12,5 против  $7,0 \pm 0,64\%$ ; 95% ДИ: 5,6–8,4), что свидетельствует о патологической активации неоангиогенеза и замедлении процессов пролиферации у женщин с рецидивами АМК на фоне ожирения.

7. Для пациенток изучаемой когорты характерна значимая ( $p < 0,05$ ) корреляционная взаимосвязь между уровнями экспрессии в эндометрии следующих иммуногистохимических маркеров: ARID1a в железах и CD34+ в строме ( $r=0,684$ ); ARID1a в железах и eNOS в строме ( $r=0,455$ ); CD34+ и eNOS в строме ( $r=0,452$ ).

8. У пациенток с АМК и ожирением имеет место значимая взаимосвязь между носительством полиморфных вариантов генов *eNOS T786C* и *VEGF-A C2578A* и площадью экспрессии *eNOS* в эндометрии. Носительство гетерозиготного генотипа по *eNOS T786C* ассоциируется с увеличением площади экспрессии eNOS в эндометрии в 1,7 раза ( $6,5 \pm 0,8$ ; 95% ДИ: 4,9–8,2; отсутствие носительства -  $3,9 \pm 0,6\%$ ; 95% ДИ: 2,8–5,1,  $p = 0,009$ ), носительство генотипа *CA* по *VEGF-A C2578A* – с увеличением в 1,6 раза ( $6,8 \pm 0,9\%$ ; 95% ДИ: 4,9–8,8 против  $4,3 \pm 0,5\%$ ; 95% ДИ: 3,1–5,4,  $p = 0,021$ ). Это подтверждает генетическую детерминированность дефекта гипоксического ответа и патологической активации неоангиогенеза в эндометрии при АМК и ожирении.

9. Предикторами риска рецидива АМК в репродуктивном возрасте при ожирении следует считать: наличие в анамнезе ВЗОМТ (ОШ=5,7; 95% ДИ: 1,3–26,4), курение (ОШ=5,0; 95% ДИ: 1,4–18,2), длительность менструации  $\geq 6$  дней

(ОШ=2,3; 95% ДИ: 1,4–3,7), степень защиты используемых гигиенических средств  $\geq 6$  (ОШ=1,9; 95% ДИ: 1,1–3,4), окружность талии  $\geq 102,5$  см (ОШ=1,04; 95% ДИ: 1,01–1,07), носительство гетерозиготного генотипа *TC* по *eNOS T786C* (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,1–7,6) и гетерозиготного генотипа *CA* по *VEGF-A C2578A* (ОШ=2,9; 95% ДИ: 1,2–7,0), а также площадь экспрессии в строме эндометрия CD34+ выше 2,4% (ОШ=6,5; 95% ДИ: 1,6–28,4) и eNOS выше 9,65% (ОШ=2,1; 95% ДИ: 1,1–4,4).

10. Разработанные математические модели позволяют результативно прогнозировать риск рецидивов АМК у пациенток с ожирением в репродуктивном возрасте: Модель 1 – на основе клинико-anamнестических предикторов (чувствительность - 81,6%, специфичность - 80,4%, диагностическая эффективность - 82,1%), Модель 2 – с использованием клинико-anamнестических и молекулярно-генетических предикторов (чувствительность - 86,8%, специфичность - 80,4%, диагностическая эффективность - 84,5%), Модель 3 – на основе иммуногистохимических предикторов (чувствительность - 90,0%, специфичность - 90,9%, диагностическая эффективность – 90,0%).

11. Алгоритм дифференцированного подхода к тактике ведения пациенток репродуктивного возраста с АМК и ожирением должен быть основан на их стратификации в зависимости от риска рецидивов (Модели 1, 2). Женщинам с наличием риска необходимы дополнительное обследование для оценки состояния эндометрия (анализ биоптата, взятого в момент кровотечения, с исследованием экспрессии CD34+ и eNOS в строме эндометрия, Модель 3), а также целенаправленная терапевтическая модификация образа жизни.

Обобщение результатов проведенного исследования позволяет сформулировать следующие **практические рекомендации**:

1. Тактика ведения пациенток репродуктивного возраста с АМК и ожирением должна быть нацелена на минимизацию риска рецидивов. Для выделения контингента риска рецидивов АМК целесообразно использовать предложенные математические модели прогноза на основе клинико-anamнестических предикторов (Модель 1) либо на основе клинико-anamнестических и молекулярно-генетических

предикторов (Модель 2), в зависимости от оснащенности и возможностей лечебно-профилактического учреждения.

2. При наличии риска рецидива АМК у пациентки с ожирением необходима углубленная оценка морфофункционального состояния эндометрия. Для этого на 2-3й день менструального цикла следует выполнить пайпель-биопсию эндометрия с последующим гистологическим исследованием. При обнаружении нормальной структуры эндометрия в результате рутинного гистологического исследования целесообразно произвести оценку площади экспрессии в строме ИГХ маркеров, имеющих прогностическую ценность (CD34+ и eNOS, Модель 3).

3. Пациенткам с АМК и ожирением в рамках терапевтической модификации образа жизни следует настоятельно рекомендовать отказ от курения, а также снижение массы тела, под контролем врача-диетолога и/или эндокринолога в рамках актуальных клинических рекомендаций. Для мониторинга риска рецидивов в динамике могут быть использованы Модели 1 или 2.

**Перспективы дальнейшей разработки темы.** Перспективными по проблематике диссертации являются исследования, направленные на углубление существующих представлений о клинико-ИГХ особенностях эндометрия у женщин с АМК при ожирении в различные периоды жизни, с расширением спектра исследуемых маркеров, а также определением их динамики на фоне снижения массы тела.

Весьма перспективны исследования, направленные на выявление генетических и ИГХ детерминант патогенеза АМК различной этиологии, прежде всего на фоне аденомиоза (АМК-А) и не относящихся ни к какой из категорий (АМК-Н).

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АМК – аномальное маточное кровотечение

АМК-Е – аномальное маточное кровотечение, обусловленное эндометриальными причинами

ВЖТ – висцеральная жировая ткань

ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ГЭ – гиперплазия эндометрия

ДДМЖ – доброкачественная дисплазия молочных желез

ДИ – доверительный интервал

ЖДА – железодефицитная анемия

ИГХ – иммуногистохимия

ИМТ – индекс массы тела

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста-1

ММП – матриксные металлопротеиназы

МЦ – менструальный цикл

ОБ – окружность бедер

ОМК – обильное менструальное кровотечение

ОТ – окружность талии

ОШ – отношение шансов

ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

РЭ – рак эндометрия

СД 2 типа – сахарный диабет 2 типа

СПЯ – синдром поликистозных яичников

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ХЭГЗ – хронические экстрагенитальные заболевания

ЭК – эндотелиальные клетки

ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

Ang-2 – ангиопоэтин-2

ARID1a – АТ-богатый интерактивный домен-содержащий белок 1A

CCL2 – лиганд 2 хемокина мотива С-С

CD34+ – кластер дифференцировки 34 (маркер эндотелиальных клеток)

CXCR4 – рецептор хемокинов 4

eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота

ESR1 – рецептор эстрогена 1

ET-1 – эндотелин-1

FIGO – Международная федерация гинекологии и акушерства

IL-1 – интерлейкин -1

IL-1 $\beta$  – интерлейкин -1 $\beta$

IL-6 – интерлейкин - 6

IL-8 – интерлейкин - 8

IL-12 – интерлейкин – 12

HIF-1 – индуцируемый гипоксией фактор-1

HIF-1 $\alpha$  – фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа

LCN-2 – липокалин-2

MCP-1 – моноцитарный хемотаксический протеин-1

NICE – Национальный институт здравоохранения и передового опыта

NF $\kappa$ B – ядерный фактор транскрипции карра В

NO – оксид азота

PDGF- $\beta$  – тромбоцитарный фактор роста- $\beta$

PGC-1 $\alpha$  – активируемый пероксисомным пролифератором рецептор  $\gamma$ -коактиватора 1 $\alpha$

PGF 2 $\alpha$  – простагландин F 2 $\alpha$

PGE 2 – простагландин E 2

PPAR-G – рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором гамма

RBP-4 – ретинол-связывающий белок-4

SNP – одиночный однонуклеотидный полиморфизм

TGF $\beta$ 1 – трансформирующий фактор роста  $\beta$ 1

TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли- $\alpha$

VEGF – сосудисто-эндотелиальный фактор роста

uNK – клетки-киллеры матки

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аномальные маточные кровотечения и ожирение: современная парадигма / В.Е. Радзинский, М.Б. Хамошина, М.Р. Оразов [и соавт.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2023. – Т. 22. – № 6. – С.54–64.
2. Аномальные маточные кровотечения у пациенток с ожирением и полиморфизм генов eNOS, VEGF-A и HIF-1A / М.Б. Хамошина, Ю.С. Артеменко, М.М. Азова [и соавт.] // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2023. – Т. 11. – № 3. – С. 5–11.
3. Аномальные маточные кровотечения: этиология и патогенез (описательный обзор) / Е.В. Енькова, Е.В. Киселева, О.В. Хоперская [и соавт.] // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2022. – Т. 8. – № 3. – С. 365-381.
4. Всемирная организация здравоохранения. Материнское здоровье [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.who.int/health-topics/maternal-health#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/maternal-health#tab=tab_1)
5. Всемирная организация здравоохранения. Устав ВОЗ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/about/accountability/governance/constitution>
6. Генетические маркеры ожирения и связанных с ним репродуктивных осложнений: современное состояние проблемы / Ю.С. Артеменко, М.Б. Хамошина, М.Р. Оразов [и соавт.] // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2021. – Т. 9. – № 3. – С. 48-55.
7. Динамика структуры причин госпитализации в нековидный гинекологический стационар до и в период пандемии COVID-19 / М. Б. Хамошина, О. А. Демина, А. Исмаилова [и соавт.] // Тезисы III Общероссийской научно-практической конференции для акушеров-гинекологов «Оттовские чтения», Санкт-Петербург, 12–13 ноября 2021 года. – Москва: Издательство журнала StatusPraesens, 2021. – С. 32-33.
8. Доброхотова, Ю.Э. Аномальные маточные кровотечения репродуктивного и пременопаузального периода: современные алгоритмы обследования и лечения / Ю.Э. Доброхотова, А.Х. Каранашева // Актуальные вопросы женского здоровья. –

2022. – №1. – С. 8-12.

9. Инструкция Diatom™ DNA Prep 200 Набор реагентов для выделения ДНК из различного биологического материала (ТУ 9398-001-73867468-2012) И н с т р у к ц и я Март 2015 г

10. Клинические рекомендации – Аномальные маточные кровотечения – 2021-2022-2023 (По состоянию на 15.05.2024 на сайте МЗ РФ)

11. Клинические рекомендации – Ожирение – 2020-2021-2022 (По состоянию на 15.05.2024 на сайте МЗ РФ)

12. Клинические рекомендации – Эндометриоз – 2020-2021-2022 (По состоянию на 15.05.2024 на сайте МЗ РФ)

13. Ключевые проблемы ведения подростков и молодых женщин с обильным менструальным кровотечением / Е.В. Уварова, И.А. Сальникова, Е.П. Хащенко, А.П. Соколова // Гинекология. – 2021. – Т. 23. – №4. – С. 370-376.

14. Комплексная терапия аномальных маточных кровотечений у женщин с избыточной массой тела и ожирением с применением миоинозитола и Д-хироинозитола в соотношении 5:1 / А.В. Соловьева, И.Ф. Фаткуллин, А.Р. Ахметгалиев [и соавт.] // Гинекология. – 2021. – Т. 23. – №5. – С. 402-406.

15. Левкович, М.А. Роль толл-подобных рецепторов и полиморфизма их генов в патогенезе овариальной дисфункции у девочек-подростков с ожирением / М.А. Левкович, В.О. Андреева, К.Э. Хошаби // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2020. – Т. 16. – № 3. – С. 64–72.

16. Молекулярно-генетические аспекты фетального программирования аномальных маточных кровотечений пубертатного периода: роль синдрома эндотелиальной дисфункции / О.А. Мелкозёрова, Н.В. Башмакова, Е.В. Волкова [и соавт.] // Проблемы репродукции. – 2016. – Т. 22. – № 3. – С. 28-36.

17. Молекулярно-генетические и эпигенетические аспекты нарушения рецептивности эндометрия у женщин с низкой массой тела при рождении / О.А. Мелкозёрова, Н.В. Башмакова, Т.Б. Третьякова, И.Д. Щедрина // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – Vol. 18. – № 4. – Р. 35–43.

18. Мурашко, М.А. Выступление на Международном конгрессе "Ожирение и метаболические нарушения". – 2023.

19. Ожирение у женщин: актуальные аспекты нарушений репродуктивного здоровья / Ю.С. Артеменко, М.Б. Хамошина, В.А. Рябова [и соавт.] // Медицинский Совет. – 2022. – № 5. – С. 32-39.

20. Патоморфологические особенности эндометрия при аномальных маточных кровотечениях у пациенток репродуктивного возраста с ожирением / Ю.С. Артеменко, М.Б. Хамошина, Н.В. Петренко [и соавт.] // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучения. – 2023. – Т. 11. – Спецвыпуск – С. 36-41.

21. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 24 апреля 2018 г. N 186 "Об утверждении Концепции предиктивной, превентивной и персонализированной медицины".

22. Радзинский, В.Е. Анемизирующий синдром у современных женщин - нерешенная мировая проблема. Врачебная тактика / В.Е. Радзинский, А.В. Соловьёва, Н.Г. Федотов // Доктор.Ру. – 2020. – Т. 19. – № 8. – С. 20-24.

23. Роль ангиогенного фактора в развитии эндометриальной дисфункции у женщин репродуктивного возраста с аномальными маточными кровотечениями и ожирением / М.Б. Хамошина, Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль, Ю.С. Артеменко // Клинический разбор в общей медицине. – 2024. – Т. 5. – № 3. – С. 47–53.

24. Современная классификация и методы коррекции аномальных маточных кровотечений у женщин позднего репродуктивного возраста / Е.В. Сибирская, Л.Г. Пивазян, И.Е. Колтунов [и соавт.] // Трудный пациент. – 2021. – Т. 19. – № 4. – С. 18-24.

25. Федеральная служба государственной статистики (Росстат). Здравоохранение в России. – 2022.

26. A comparison of the growth status, level of blood glucose, and lipid metabolism in small for gestational age and appropriate for gestational age girls with central precocious puberty: a retrospective study / X. Yu, X. Yang, Y. Zhao [et al.] // Translational Pediatrics. – 2021. – Vol. 10. – № 4. – P. 783-789.

27. A critical period of progesterone withdrawal precedes endometrial breakdown and shedding in mouse menstrual-like model / Q. Wang, X. Xu, B. He [et al.] // *Human Reproduction*. – 2013. – Vol. 28. – № 6. – P. 1670–1678.

28. A systematic review evaluating health-related quality of life, work impairment, and health-care costs and utilization in abnormal uterine bleeding / Z. Liu, Q.V. Doan, P. Blumenthal, R.W. Dubois // *Value Health*. – 2007. – Vol. 10. – № 3. –P. 183-194.

29. Abnormal uterine bleeding and associated factors among reproductive age women in Jimma town, Oromia Region, Southwest Ethiopia / U. Gerema, K. Kene, D. Abera [et al.] // *Women's Health*. – 2022. – Vol. 18.

30. Abnormal uterine bleeding and chronic iron deficiency / V.V. Barros, E.A. Hase, C.C. Salazar [et al.] // *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia*. – 2022. – Vol. 44. – № 12. – P. 1161-1168.

31. Abnormal uterine bleeding types according to the PALM-COEIN FIGO classification in a medically underserved American community / A. Sabre, L. Serventi, D. Nuritdinova [et al.] // *Journal of the Turkish German Gynecological Association*. – 2021. – Vol. 22. – № 2. – P. 91-96.

32. Abnormal Uterine Bleeding: A Pictorial Review on Differential Diagnosis and Not-So-Common Cases of Interventional Radiology Management / S. Viganò, A. Smedile, C. Cazzella [et al.] // *Diagnostics (Basel)*. – 2024. – Vol. 14. – № 8. – P. 798.

33. Adherence to index-based dietary patterns in childhood and BMI trajectory during the transition to adolescence: the EPOCH study / T.A. Bekelman, B.M. Ringham, K.A. Sauder [et al.] // *International Journal of Obesity*. – 2021. – Vol. 4. – № 11. – P. 2439-2446.

34. Altered vascular smooth muscle cell differentiation in the endometrial vasculature in menorrhagia / S.S. Biswas, J.N. Bulmer, B.A. Innes [et al.] // *Human Reproduction*. – 2014. – Vol. 29. – № 9. – P. 1884-1894.

35. Analysis of the Immune Response by Standardized Whole-Blood Stimulation with Metabolism Modulation / J. Zhao, X. Han, H. Li [et al.] // *Phenomix*. – 2023. – Vol. 4. – № 1. – P. 81-89.

36. Angiogenesis in abnormal uterine bleeding: a narrative review /

M.A. Middelkoop, E.E. Don, W.J.K. Hehenkamp [et al.] // *Human Reproduction Update*. – 2023. – Vol. 29. – № 4. – P. 457-485.

37. ARID1A Is Essential for Endometrial Function during Early Pregnancy / T.H. Kim, J.Y. Yoo, Z. Wang [et al.] // *PLoS genetics*. – 2015. – Vol. 11. – № 9. – P. e1005537.

38. Artemniak-Wojtowicz, D. Obesity and chronic inflammation crosslinking / D. Artemniak-Wojtowicz, A.M. Kucharska, B. Pyrzak // *Central European Journal of Immunology*. – 2020. – № 45. – P. 461-468.

39. Assessing the clinical diagnostic value of anti-Müllerian hormone in polycystic ovarian syndrome and its correlation with clinical and metabolism indicators / L. Wang, M. Luo, X. Yu [et al.] // *Journal of Ovarian Research*. – 2024. – Vol. 17. – № 1. – P. 78.

40. Assessment of estrogen receptor gene polymorphism (t-397c variant) in patients with premenstrual syndrome / L.V. Pakharenko, V.D. Vorobii, N.Y. Kurtash [et al.] // *Wiadomosci lekarskie*. – 2020. – Vol. 73. – № 7. – P. 1505-1509.

41. Association Between Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) –786 T/C and 27-bp VNTR 4b/a Polymorphisms and Preeclampsia Development / T. Sljivancanin Jakovljevic, O. Kontic-Vucinic, N. Nikolic [et al.] // *Reproductive Sciences*. – 2021. – Vol. 28. – № 12. – P. 3529–3539.

42. Association between HIF-1 $\alpha$  C1772T/G1790A polymorphisms and cancer susceptibility: an updated systematic review and meta-analysis based on 40 case-control studies / Q. Yan, P. Chen, S.Wang [et al.] // *BMC Cancer*. – 2014. – Vol. 14. – P. 950.

43. Association between hypoxia-inducible factor-1 alpha rs11549465 (1772 C>T) polymorphism and metabolic syndrome / U. Zafar, Z. Ali, S. Khaliq, K. Lone // *The Journal of the Pakistan Medical Association*. – 2021. – Vol. 71. – № 7. –P. 1832-1837.

44. Association between Patients' Self-Judgement, Coagulated Menstrual Blood, and Menorrhagia: Results from a Questionnaire Survey and Blood Test Analysis / E.J. Lee, J.E. Ahn, J.M. Ryu // *Medicina (Kaunas)*. – 2023. – Vol. 59. – № 5. – P. 874.

45. Association between the estrogen receptor  $\alpha$  gene polymorphisms rs2234693 and rs9340799 and severe and mild preeclampsia: a meta-analysis / G. Zhao, Y. Cai, J. Liu, T. Meng // *Bioscience Reports*. – 2019. – Vol. 39. – № 2. – P. BSR20181548.

46. Association of Anthropometric Indices with Menstrual Abnormality among Nursing Students of Nepal: A Cross-Sectional Study / K. Amgain, P. Subedi, G.K. Yadav [et al.] // *Journal of Obesity*. – 2022. – P. 6755436.
47. Association of interleukin-6 polymorphisms with obesity: A systematic review and meta-analysis / M. Gholami, F. Sharifi, S. Shahriari [et al.] // *Cytokine*. – 2019. – Vol. 123. – P. 154769.
48. Association of maternal pre-pregnancy low or increased body mass index with adverse pregnancy outcomes / J. Tang, X. Zhu, Y. Chen [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 3831.
49. Association of obesity status and metabolic syndrome with site-specific cancers: a population-based cohort study / Z. Cao, X. Zheng, H. Yang [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2020. – Vol. 123. – № 8. – P. 1336-1344.
50. Association of prenatal maternal anemia with neurodevelopmental disorders / A.M. Wieggersma, C. Dalman, B.K. Lee [et al.] // *JAMA Psychiatry*. – 2019. – Vol. 76. – № 12. – P. 1294-1304.
51. Association of rs699947 (–2578 C/A) and rs2010963 (–634 G/C) Single Nucleotide Polymorphisms of the VEGF Gene, VEGF-A and Leptin Serum Level, and Cardiovascular Risk in Patients with Excess Body Mass: A Case–Control Study / D. Skrypnik, A. Mostowska, P.P. Jagodziński, P. Bogdański // *Journal of Clinical Medicine*. – 2020. – Vol. 9. – № 2. – P. 469
52. Ates, S. Cardiometabolic profiles in women with adenomyosis / S. Ates, S. Aydın, P. Ozcan // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. – 2022. – Vol. 42. – № 7. – P. 3080-3085.
53. Blüher, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis / M. Blüher // *Nature Reviews Endocrinology*. – 2019. – Vol. 15. – № 5. – P. 288-298.
54. Body mass index is not associated with donor oocyte recipient success: an ideal study using a paired analysis of sibling-oocytes / R. Setton, A. Chung, L. Zimmerman [et al.] // *Fertility Sterility Report*. – 2020. – Vol. 1. – № 1. – P. 25-29
55. Bond, S. T. Adipose-derived extracellular vesicles: systemic messengers and metabolic regulators in health and disease / S.T. Bond, A.C. Calkin, B.G. Drew //

Frontiers in Physiology. – 2022. – Vol. 13. – P. 837001.

56. Brown, K.A. Update on Adipose Tissue and Cancer / K.A. Brown, P.E. Scherer // Endocrine Reviews. – 2023. – Vol. 44. – № 6. – P. 961-974.

57. Camaschella, C. Iron deficiency / C. Camaschella // Blood. – 2019. – Vol. 133. – № 1. – P. 30-39.

58. Cepeda-Lopez, A.C. Obesity, iron deficiency and anaemia: a complex relationship / A.C. Cepeda-Lopez, K. Baye // Public Health Nutrition. – 2020. – Vol. 23. – № 10. – P. 1703-1704

59. Chaichanabut, C. Genetic Polymorphisms of Endothelial Nitric Oxide Synthase Associated with Hypertension and Blood Homocysteine Levels / C. Chaichanabut, P. Sritara, J. Sirivarasai // International journal of general medicine. – 2024. – Vol. 17. – P. 1509-1519

60. Chodankar, R. Biomarkers in abnormal uterine bleeding / R. Chodankar, H.O.D. Critchley // Biology of Reproduction. – 2019. – Vol. 101. – № 6. – P. 1155-1166.

61. Chooi, Y. C. The epidemiology of obesity / Y.C. Chooi, C. Ding, F. Magkos // Metabolism. – 2019. – Vol. 92. – P. 6-10.

62. Chronic adipose tissue inflammation linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes / F. Zatterale, M. Longo, J. Naderi [et al.] // Frontiers in Physiology. – 2020. – Vol. 10. – P. 1607.

63. Clinical study of classification and regression tree assisted endometrial biopsy in the diagnosis of endometrial carcinoma / W. Fu, M. Zhang, Y. Zhou [et al.] // American Journal of Cancer Research. – 2023. – Vol. 13. – № 11. – P. 5394-5404.

64. Co-existing TP53 and ARID1A mutations promote aggressive endometrial tumorigenesis / J.J. Reske, M.R. Wilson, J. Holladay [et al.] // PLoS Genetics. – 2021. – Vol. 17. – № 12. – P. e1009986.

65. Čolak, E. The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders / E. Čolak, D. Pap // Journal of Medical Biochemistry. – 2021. – Vol. 40. – № 1. – P. 1-9.

66. Constantine, G.D. Increased incidence of endometrial cancer following the Women's Health Initiative: an assessment of risk factors / G.D. Constantine, G. Kessler,

S. Graham, S.R. Goldstein // *Journal of Women's Health*. – 2019. – Vol. 28. – № 2. – P. 237–243.

67. Cross-ancestry Genome-wide Association Studies of Sex Hormone Concentrations in Pre- and Postmenopausal Women / C.B. Haas, L. Hsu, J.W. Lampe [et al.] // *Endocrinology*. – 2022. – Vol. 163. – № 4. – P. bqac020.

68. Curry, A. Pelvic Inflammatory Disease: Diagnosis, Management, and Prevention / A. Curry, T. Williams, M.L. Penny // *American Family Physician*. – 2019. – Vol. 100. – № 6. – P. 357-364.

69. Dash, S. P. Monocytes and macrophages: Origin, homing, differentiation, and functionality during inflammation / S.P. Dash, S. Gupta, P.P.Sarangi // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 10. – № 8. – P. e29686.

70. Davis, E. Abnormal uterine bleeding [Электронный ресурс] / E. Davis, P.B. Sparzak // *Treasure Island: StatPearls*. – 2022. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532913/56>

71. Development and validation of a predictive model of abnormal uterine bleeding associated with ovulatory dysfunction: a case-control study / Y. Zhang, Z. Luo, Y. Jia [et al.] // *BMC Women's Health*. – 2023. – Vol. 23. – № 1. – P. 536.

72. Diabetes Mellitus and its Risk Factors Among a Suburban Population of Northwestern Nigerians: A Community-Based Survey / M.A. Ramalan, R.A. Habibu, M.B. Maiyaki [et al.] // *Nigerian Medical Journal*. – 2022. – Vol. 62. – № 4. – P. 162-170.

73. Don, E. E. Infertility in patients with uterine fibroids: a debate about the hypothetical mechanisms / E.E. Don, V. Mijatovic, J.A.F. Huirne // *Human Reproduction*. – 2023. – Vol. 38. – № 11. – P. 2045-2054.

74. Dutton, B. Women's experiences of heavy menstrual bleeding and medical treatment: a qualitative study in primary care / B. Dutton, J. Kai // *The British Journal of General Practice*. – 2023. – Vol. 73. – № 729. – P. e294-e301.

75. Effects of gene polymorphism and serum levels of IL-2 and IL-6 on endometriosis / X.Q. Wang, M. Hu, J.M. Chen [et al.] // *European review for medical and pharmacological sciences*. – 2020. – Vol. 24. – № 9. – P. 4635-4641.

76. Endometrial and menstrual blood mesenchymal stem/stromal cells: biological properties and clinical application / M. Bozorgmehr, S. Gurung, S. Darzi [et al.] // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2020. – Vol. 8. – P. 497.
77. Endometrial angiogenesis of abnormal uterine bleeding and infertility in patients with uterine fibroids—a systematic review / E.E. Don, M-A. Middelkoop, W.J.K. Hehenkamp [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 8. – P. 7011.
78. Endometrial biopsy: Indications, techniques and recommendations. An evidence-based guideline for clinical practice / S.G. Vitale, G. Buzzaccarini, G. Riemma [et al.] // *Journal of gynecology obstetrics and human reproduction*. – 2023. – Vol. 52. – № 6. – P. 102588.
79. Endometrial cancer / E.J. Crosbie, S.J. Kitson, J.N. McAlpine [et al.] // *Lancet*. – 2022. – Vol. 399. – № 10333. – P. 1412-1428.
80. Endometrial polyps. An evidence-based diagnosis and management guide / S.G. Vitale, S. Haimovich, A.S. Laganà [et al.] // *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*. – 2021. – Vol. 260. – P. 70-77.
81. Endometrial vascular development in heavy menstrual bleeding: altered spatio-temporal expression of endothelial cell markers and extracellular matrix components / S. Biswas Shivhare, J.N. Bulmer, B.A. Innes [et al.] // *Human Reproduction*. – 2018. – Vol. 33. – № 3. – P. 399-410
82. Endothelial Dysfunction in Obesity-Induced Inflammation: Molecular Mechanisms and Clinical Implications / I.K. Kwaifa, H. Bahari, Y.K. Yong, S.M. Noor // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10. – № 2. – P. 291.
83. Evaluation of Association Studies and Meta-Analyses of eNOS Polymorphisms in Type 2 Diabetes Mellitus Risk / D. Wang, L. Liu, C. Zhang [et al.] // *Frontiers in genetics*. – 2022. – Vol. 13. – P. 887415.
84. Exacerbated and prolonged inflammation impairs wound healing and increases scarring / L.W. Qian, A.B. Fourcaudot, K. Yamane [et al.] // *Wound Repair and Regeneration*. – 2016. – Vol. 24. – № 1. – P. 26-34.
85. Expression deregulation of matrix metalloproteinases and vasoconstriction

related genes in Pakistani females with abnormal uterine bleeding / Z. Akram, I. Mahjabeen, F. Irshad [et al.] // BMC Womens Health. – 2022. – Vol. 22. – № 1. – P. 543.

86. Extracellular matrix remodeling and inflammatory pathway in human endometrium: insights from uterine leiomyomas / L. Governini, C. Marrocco, B. Semplici [et al.] // Fertility and Sterility. – 2021. – Vol. 116. – № 5. – P. 1404-1414.

87. Female obesity and infertility: outcomes and regulatory guidance / S. Marinelli, G. Napoletano, M. Straccamore, G. Basile // Acta Bio-medica. – 2022. – Vol. 93. – № 4. – P. e2022278.

88. Fielder, S. Obesity and menstrual disorders / S. Fielder, M. Nickkho-Amiry, M.W. Seif // Best Practice & Research. Clinical obstetrics & Gynaecology. – 2023. – Vol. 89. – P. 102343.

89. FIGO classification system (PALM- COEIN) for causes of abnormal uterine bleeding in nongravid women of reproductive age / M.G. Munro, H.O. Critchley, M.S. Broder, I.S. Fraser // International Journal of Gynaecology and Obstetrics. – 2011. – Vol. 113. – № 1. – P. 3-13.

90. Follicular metabolic alterations are associated with obesity in mares and can be mitigated by dietary supplementation / G.D. Catandi, K.J. Fresa, M.H. Cheng [et al.] // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 7571.

91. Fraser, R. Killer Timing: The Temporal Uterine Natural Killer Cell Differentiation Pathway and Implications for Female Reproductive Health / R. Fraser, A.C. Zenclussen // Frontiers in Endocrinology. – 2022. – Vol. 13. – P. 904744.

92. From menarche to menopause, heavy menstrual bleeding is the underrated compass in reproductive health / S. Vannuccini, V. Jain, H. Critchley, F. Petraglia // Fertility and Sterility. – 2022. – Vol. 118. – № 4. – P. 625-636.

93. GBD 2021 Anaemia Collaborators. Prevalence, years lived with disability, and trends in anaemia burden by severity and cause, 1990-2021: findings from the Global Burden of Disease Study 2021 // The Lancet. Haematology. – 2023. – Vol. 10. – № 9. – P. e713–e734.

94. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030 / T. Kelly, W. Yang,

C.S. Chen [et al.] // International Journal of Obesity. – 2008. – Vol. 32. – № 9. – P. 1431-1437.

95. Global epidemiological characteristics of uterine fibroids / B. Li, F. Wang, L. Chen, H. Tong // Archives of Medical Science. – 2023. – Vol. 19. – № 6. – P. 1802-1810.

96. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 / M. Ng, T. Fleming, M. Robinson [et al.] // Lancet. – 2014. – Vol. 384. – № 9945. – P. 766-781.

97. Health-related quality of life and menstrual problems in adolescents / A. Pogodina, O. Dolgikh, T. Astakhova [et al.] // Journal of Paediatrics and Child Health. – 2022. – Vol. 58. – № 6. – P. 1028-1032.

98. Heavy menstrual bleeding among women aged 18-50 years living in Beijing, China: prevalence, risk factors, and impact on daily life / C. Ding, J. Wang, Y. Cao [et al.] // BMC Womens Health. – 2019. – Vol. 19. – № 1. – P. 27.

99. Henry, C. Barriers to seeking consultation for abnormal uterine bleeding: systematic review of qualitative research / C. Henry, A. Ekeroma, S. Filoche // BMC Womens Health. – 2020. – Vol. 20. – № 1. – P. 123.

100. Herrero-Cervera, A. Neutrophils in chronic inflammatory diseases / A. Herrero-Cervera, O. Soehnlein, E. Kenne // Cellular & Molecular Immunology. – 2022. – Vol. 19. – № 2. – P. 177-191.

101. HIF-1: structure, biology and natural modulators / C. Yang, Z.F. Zhong, S.P. Wang [et al.] // Chinese Journal of Natural Medicines. – 2021. – Vol. 19. – № 7. – P. 521-527.

102. Hong, I. S. Endometrial Stem Cells: Orchestrating Dynamic Regeneration of Endometrium and Their Implications in Diverse Endometrial Disorders International / I.S. Hong // Journal of Biological Sciences. – 2024. – Vol. 20. – № 3. – P. 864-879.

103. Hypoxia and hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  are required for normal endometrial repair during menstruation / J.A. Maybin, A.A. Murray, P.T.K. Saunders [et al.] // Nature Communications. – 2018. – Vol. 9. – № 1. – P. 295.

104. Hypoxia and reproductive health: The presence and role of hypoxia in the endometrium / R. Martínez-Aguilar, L.E. Kershaw, J.J. Reavey [et al.] // *Reproduction*. – 2021. – Vol. 161. – № 1. – P. F1-F17.

105. Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  is an important regulator of macrophage biology / B. Qiu, P. Yuan, X. Du [et al.] // *Heliyon*. – 2023. – Vol. 9. – № 6. – P. e17167.

106. Hypoxia: involved but not essential for endometrial breakdown in mouse menstrual-like model / X. Chen, B. Wu, S. Wang [et al.] // *Reproduction*. – 2020. – Vol. 159. – № 2. – P. 133–144.

107. Hypoxia-inducible factor (HIF)-3 $\alpha$ 2 serves as an endothelial cell fate executor during chronic hypoxia / M. Jaskiewicz, A. Moszynska, M. Serocki [et al.] // *EXCLI Journal*. – 2022. – Vol. 21. – P. 454-469.

108. Hypoxyprobe<sup>TM</sup> reveals dynamic spatial and temporal changes in hypoxia in a mouse model of endometrial breakdown and repair / F.L. Cousins, A.A. Murray, J.P. Scanlon, P.T. Saunders // *BMC Research Notes*. – 2016. – Vol. 9. – P. 30.

109. In vivo cell fate tracing provides no evidence for mesenchymal to epithelial transition in adult fallopian tube and uterus / A. Ghosh, S.M. Syed, M. Kumar [et al.] // *Cell Reports*. – 2020. – Vol. 31. – № 6. – P. 107631.

110. Influence of metabolic syndrome on female fertility and in vitro fertilization outcomes in PCOS women / Y. He, Y. Lu, Q. Zhu [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2019. – Vol. 221. – № 2. – P. 138.e1-138.e12.

111. Insulin Resistance and Endometrial Cancer: Emerging Role for microRNA / I. Sidorkiewicz, M. Jóźwik, M. Niemira, A. Krętowski // *Cancers (Basel)*. – 2020. – Vol. 12. – № 9. – P. 2559.

112. International Health Conference. Constitution of the World Health Organization. 1946. *Bulletin of the World Health Organization*. – 2002. – Vol. 80. – № 12. – P. 983–984.

113. Investigating the Association Between Metabolic Syndrome and Adenomyosis / F.K. Hanson, R. Kishan, K. Macleay, C.S. Riese // *Obstetrics & Gynecology*. – 2020. – Vol. 135. – P. 25S.

114. Itriyeva, K. The effects of obesity on the menstrual cycle / K. Itriyeva // *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. – 2022. – Vol. 52. – № 8. – P. 101241.
115. Itriyeva, K. The normal menstrual cycle/ K. Itriyeva // *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. – 2022. – Vol. 52. – № 5. – P. 101183.
116. Kappeler, L. Role of adipose tissue microRNAs in the onset of metabolic diseases and implications in the context of the DOHaD / L. Kappeler // *Cells*. – 2022. – Vol. 11. – № 23. – P. 3711.
117. Kaygusuz, I. Investigation of vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphism in patients with idiopathic heavy menstrual bleeding / I. Kaygusuz, N. Semerci Gündüz // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2022. – Vol. 305. – № 1. – P. 109-116.
118. Khafaga, A. Abnormal Uterine Bleeding / A. Khafaga, S.R. Goldstein // *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. – 2019. – Vol. 46. – № 4. – P. 595-605.
119. Kirkwood, P. M. Mechanisms of Scarless Repair at Time of Menstruation: Insights From Mouse Models / P.M. Kirkwood, I.W. Shaw, P.T.K. Saunders // *Frontiers in Reproductive Health*. – 2022. – Vol. 6. – № 3. – P. 801843.
120. Kobayashi, H. Endometrial Inflammation and Impaired Spontaneous Decidualization: Insights into the Pathogenesis of Adenomyosis / H. Kobayashi // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2023. – Vol. 20. – № 4. – P. 3762.
121. Kocevskaja A. et al. Histopathological changes of the endometrium in patients with abnormal uterine bleeding and association with some risk factors / A. Kocevskaja, D. Zafirov, G. Petrushevskaja [et al.] // *Journal of Morphological Sciences*. – 2021. – Vol. 4. – № 2. – P. 66-71.
122. Kolb, H. Obese visceral fat tissue inflammation: from protective to detrimental / H. Kolb // *BMC Medicine*. – 2022. – Vol. 20. – № 1. – P. 494.
123. Kumari, P. Endometrial Cut Off Thickness as Predictor of Endometrial Pathology in Perimenopausal Women with Abnormal Uterine Bleeding: A Cross-

Sectional Study / P. Kumari, H.S. Gaikwad, B. Nath // *Obstetrics and gynecology international*. – 2022. – Vol. 1. – P. 1-6.

124. LBODP005 gper modulates multiple functions in adipose tissue to promote an anti-obese phenotype / G. Sharma, C.D. Woods, R. Rajkarnikar [et al.] // *Journal of the Endocrine Society*. – 2022. – Vol. 6. – P. A3–A3.

125. Li, X. Associations between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of coronary artery disease: A systematic review and meta-analysis of 132 case-control studies / X. Li, Y. Lin, R. Zhang // *European journal of preventive cardiology*. – 2019. – Vol. 26. – № 2. – P. 160-170.

126. LncRNA GAS5 activates the HIF1A/VEGF pathway by binding to TAF15 to promote wound healing in diabetic foot ulcers / W.X. Peng, P.X. He, L.J. Liu [et al.] // *Laboratory Investigation*. – 2021. – Vol. 101. – № 8. – P. 1071-1083.

127. Low proliferative potential of adipose-derived stromal cells associates with hypertrophy and inflammation in subcutaneous and omental adipose tissue of patients with type 2 diabetes mellitus / I. Stafeev, N. Podkuychenko, S. Michurina [et al.] // *Journal of Diabetes and its Complications*. – 2019. – Vol. 33. – № 2. – P. 148-159.

128. Luo, Y. C allele of -786 T>C polymorphism in the promoter region of endothelial nitric oxide synthase is responsible for endothelial dysfunction in the patients with rheumatoid arthritis / Y. Luo, Y. Wang, W. Luo // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2020. – Vol. 121. – № 1. – P. 363-370.

129. Mao, C. Decreased Glycolysis at Menstruation is Associated with Increased Menstrual Blood Loss / C. Mao, X. Liu, S.W. Guo // *Reproductive Sciences*. – 2023. – Vol. 30. – № 3. – P. 928-951.

130. Markee, J.E. Menstruation in intraocular endometrial transplants in the rhesus monkey / J.E. Markee // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1978. – Vol. 131. – № 5. – P. 558–559.

131. Markers of human endometrial hypoxia can be detected in vivo and ex vivo during physiological menstruation / J.J. Reavey, C. Walker, M. Nicol [et al.] // *Human Reproduction*. – 2021. – Vol. 36. – № 4. – P. 941-950.

132. Matrix Metalloproteinases in Human Decidualized Endometrial Stromal Cells /

Y. Hisamatsu, H. Murata, H. Tsubokura [et al.] // *Current Issues in Molecular Biology*. – 2021. – Vol. 43. – № 3. – P. 2111-2123.

133. MC4R variants rs12970134 and rs17782313 are associated with obese polycystic ovary syndrome patients in the Western region of Saudi Arabia / A.A. Batarfi, N. Filimban, O.S. Bajouh [et al.] // *BMC Medical Genetics*. – 2019. – Vol. 20. – № 1. – P. 144.

134. Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome / S.K. Masenga, L.S. Kabwe, M. Chakulya, A. Kirabo // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 9. – P. 7898.

135. Menstrual cycle distribution of uterine natural killer cells is altered in heavy menstrual bleeding / S.S. Biswas, J.N. Bulmer, B.A. Innes [et al.] // *Journal of reproductive immunology*. – 2015. – Vol. 112. – P. 88-94.

136. Menstrual cycle regularity and length across the reproductive lifespan and risk of premature mortality: prospective cohort study / Y.S. Wang, M. Arvizu, J.W. Rich-Edwards [et al.] // *BMJ*. – 2020. – Vol. 371. – P. m3464.

137. Menstrual cycle-associated symptoms and workplace productivity in US employees: A cross-sectional survey of users of the Flo mobile phone app / S. Ponzio, A. Wickham, R. Bamford [et al.] // *Digital health*. – 2022. – Vol. 8. – P. 20552076221145852.

138. Menstrual fluid factors facilitate tissue repair: identification and functional action in endometrial and skin repair / J. Evans, G. Infusini, J. McGovern [et al.] // *FASEB Journal*. – 2019. – Vol. 33. – № 1. – P. 584-605.

139. Menstruation Dysregulation and Endometriosis Development / K.K.W. Kuan, D.A. Gibson, L.H.R. Whitaker, A.W. Horne // *Frontiers in Reproductive Health*. – 2021. – Vol. 3. – P. 756704.

140. Menstruation: science and society / H.O.D. Critchley, E. Babayev, S.E. Bulun [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2020. – Vol. 223. – № 5. – P. 624-664.

141. Metabolic memory in diabetic foot syndrome (DFS): MICRO-RNAS, single nucleotide polymorphisms (SNPs) frequency and their relationship with indices of

endothelial function and adipo-inflammatory dysfunction / A. Del Cuore, R.M. Pipitone, A. Casuccio [et al.] // Cardiovascular diabetology. – 2023. – Vol. 22. – № 1. – P. 148.

142. Metaflammation in obesity and its therapeutic targeting / M.W. Schleh, H.L. Caslin, J.N. Garcia [et al.] // Science Translational Medicine. – 2023. – Vol. 15. – № 723. – P. eadf9382.

143. Meta-Inflammation and Metabolic Reprogramming of Macrophages in Diabetes and Obesity: The Importance of Metabolites / S. Russo, M. Kwiatkowski, N. Govorukhina [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2021. – Vol. 12. – P. 746151.

144. Munro, M.G. Abnormal uterine bleeding: a well-travelled path to iron deficiency and anemia / M.G. Munro, FIGO Committee on Menstrual Disorders // International Journal of Gynaecology and Obstetrics. – 2020. – Vol. 150. – № 3. – P. 275–277.

145. Munro, M.G. Research and clinical management for women with abnormal uterine bleeding in the reproductive years: More than PALM-COEIN / M.G. Munro, H. Critchley, I.S. Fraser // BJOG. – 2017. – Vol. 124. – № 2. – P. 185-189.

146. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. Heavy menstrual bleeding. London: National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. (UK). – 2007.

147. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Heavy Menstrual Bleeding: Assessment and Management. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK). – 2021.

148. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC) Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults / NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC) // Lancet. – 2024. – Vol. 403. – № 10431. – P.1027-1050.

149. Nouri, M. Association of dysfunctional uterine bleeding with high body mass index and obesity as a main predisposing factor / M. Nouri, A. Tavakkolian, S.R. Mousavi // Diabetes & Metabolic Syndrome. – 2014. – Vol. 8. – № 1. – P. 1-2.

150. Obesity Affects Endometrial Receptivity by Displacing the Window of Implantation / J. Bellver, C. Marín, R.B. Lathi [et al.] // Reproductive sciences. – 2021. – Vol. 28. – № 11. – P. 3171-3180.

151. Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) / Y. Zhou, J. Chi, W. Lv, Y. Wang // *Diabetes/metabolism Research and Reviews*. – 2021. – Vol. 37. – P. e3377.

152. Obesity and endometrial hyperplasia and cancer in premenopausal women: A systematic review / M.R. Wise, V. Jordan, A. Lagas [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2016. – Vol. 214. – № 6. – P. 689.e1-689.e17.

153. Obesity and infectious diseases: pathophysiology and epidemiology of a double pandemic condition / G. Pugliese, A. Liccardi, C. Graziadio [et al.] // *International Journal of Obesity*. – 2022. – Vol. 46. – № 3. – P. 449–465.

154. Obesity and its impact on female reproductive health: unraveling the connections / L. Zheng, L. Yang, Z. Guo [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2024. – Vol. 14. – P. 1326546

155. Obesity and recurrent miscarriage: A systematic review and meta-analysis. M.B. Cavalcante, M. Sarno, A.B. Peixoto [et al.] // *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. – 2019. – Vol. 45. – № 1. – P. 30-38.

156. Obesity as an effect modifier of the association between menstrual abnormalities and hypertension in young adult women: Results from Project ELEFANT / H. Xu, P.H. Li, T.M. Barrow [et al.] // *PLoS One*. – 2018. – Vol. 13. – № 11. – P. e0207929.

157. Obesity does not alter endometrial gene expression in women with endometriosis / S.J. Holdsworth-Carson, J. Chung, C. Sloggett [et al.] // *Reproductive Biomedicine Online*. – 2020. – Vol. 41. – № 1. – P. 113-118.

158. Obesity is associated with heavy menstruation that may be due to delayed endometrial repair / J.J. Reavey, C. Walker, A.A. Murray [et al.] // *The Journal of Endocrinology*. – 2021. – Vol. 249. – № 2. – P. 71-82.

159. Obesity is associated with IL-6 gene polymorphisms rs1800795 and rs1800796 but not SOCS3 rs4969170 / G. Koc, T. Doran, M.M. Uygur, D. Kirac // *Molecular biology reports*. – 2023. – Vol. 50. – № 3. – P. 2041–2048.

160. Obesity, Dietary Fats, and Gastrointestinal Cancer Risk-Potential Mechanisms Relating to Lipid Metabolism and Inflammation / K.A.J. Mitchelson, F. O'Connell, J. O'Sullivan, H.M. Roche // *Metabolites*. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 42.

161. Onstad, M.A. Addressing the Role of Obesity in Endometrial Cancer Risk, Prevention, and Treatment / M.A. Onstad, R.E. Schmandt, K.H. Lu // *Journal of Clinical Oncology*. – 2016. – Vol. 34. – № 35. – P. 4225-4230.

162. Overweight and Obesity in the Russian Population: Prevalence in Adults and Association with Socioeconomic Parameters and Cardiovascular Risk Factors / A. Kontsevaya, S. Shalnova, A. Deev [et al.] // *Obesity Facts*. – 2019. – Vol. 12. – № 1. – P. 103-114.

163. Oza, H.H. Multiplex Immunofluorescence Staining Protocol for the Dual Imaging of Hypoxia-Inducible Factors 1 and 2 on Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Samples / H.H. Oza, D.M. Gilkes // *Methods in Molecular Biology*. – 2024. – Vol. 2755. – P. 167-178.

164. Physiology of the Endometrium and Regulation of Menstruation / H.O.D. Critchley, J.A. Maybin, G.M. Armstrong, A.R.W. Williams // *Physiological Reviews*. – 2020. – Vol. 100. – № 3. – P. 1149-1179.

165. Polycystic ovary syndrome and obesity: a modern paradigm / M.B. Khamoshina, Y.S. Artemenko, A.A. Bayramova [et al.] // *RUDN Journal of Medicine*. – 2022. – Vol. 26. – № 4. – P. 382-395.

166. Prediction of Endometrial Hyperplasia and Cancer among Premenopausal Women with Abnormal Uterine Bleeding / L. Giannella, L.B. Cerami, T. Setti [et al.] // *BioMed Research International*. – 2019. – Vol. 1. – P. 1-6.

167. Predictive value of body mass index (BMI) and determination of optimum cut-off point in the diagnosis of endometrial hyperplasia in pre-menopausal women with abnormal uterine bleeding / G.S. Alizadeh, S. Yazdani, H. Musavi [et al.] // *Caspian Journal of Internal Medicine*. – 2024. – Vol. 15. – № 1. – P. 87-95.

168. Preeclampsia association of placental nucleotide variations in eNOS, VEGFA, and FLT-1 genes in Latin American pregnant women / A. Macías-Salas, M. Sosa-Macías, L.J. Barragán-Zúñiga [et al.] // *Placenta*. – 2023. – Vol. 135. – P. 1-6.

169. Prevalence of Abnormal Uterine Bleeding and its Associated Risk Factors in Women of Perimenopausal Age Group-A Retrospective Study / R. Vaidya,

S. Vinayachandran, S. Devi [et al.] // Journal of Clinical and Diagnostic Research. – 2022. – Vol. 16. – № 12.

170. Progestins Related to Progesterone and Testosterone Elicit Divergent Human Endometrial Transcriptomes and Biofunctions / S. Houshdaran, J.C. Chen, J. Vallvé-Juanico [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – № 7. – P. 2625.

171. Protective effect of *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Kuntze against abnormal uterine bleeding in female rats / L. Li, Q. Huang, X. Duan [et al.] // Journal of Pharmacological Sciences. – 2020. – Vol. 143. – № 1. – P. 1-8.

172. Puspasari, A. Genetic Variant of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-A rs699947 is Associated with Preeclampsia Molecular and Cellular Biomedical Sciences / A. Puspasari, R.N. Enis, H. Herlambang // Molecular and Cellular Biomedical Sciences. – 2022. – Vol. 6. – № 2. – P. 70-76.

173. Recommendations From the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome / H.J. Teede, C.T. Tay, J.J.E. Laven [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2023. – Vol. 108. – № 10. – P. 2447-2469.

174. Recurrence and prediction of abnormal uterine bleeding and re-intervention after initial hysteroscopic treatment: a retrospective cohort study / S.F.G. Schaffrath, J.R.J. Dreessen, M.Y. Bongers [et al.] // Archives of Gynecology and Obstetrics. – 2019. – Vol. 300. – № 6. – P. 1651–1657.

175. Reduced Transforming Growth Factor- $\beta$  Activity in the Endometrium of Women With Heavy Menstrual Bleeding / J.A. Maybin, L. Boswell, V.J. Young [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2017. – Vol. 102. – № 4. – P. 1299-1308.

176. Relapse risk of endometrial hyperplasia after treatment with the levonorgestrel-impregnated intrauterine system or oral progestogens / A. Orbo, M. Arnes, A.B. Vereide, B. Straume // BJOG. – 2019. – Vol. 123. – № 9. – P. 1512-1519.

177. RISING STARS: Role of MED12 mutation in the pathogenesis of uterine fibroids / H. Ishikawa, T. Kobayashi, M. Kaneko [et al.] // Journal of molecular

endocrinology. – 2023. – Vol. 71. – № 4. – P. e230039.

178. Risk factors for endometrial cancer: An umbrella review of the literature / O. Raglan, I. Kalliala, G. Markozannes [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2019. – Vol. 145. – № 7. – P. 1719–1730.

179. Role of angiogenesis in adenomyosis-associated abnormal uterine bleeding and subfertility: a systematic review / M.J. Harmsen, C.F.C. Wong, V. Mijatovic [et al.] // *Human Reproduction Update*. – 2019. – Vol. 25. – № 5. – P. 647–671.

180. Role of Leptin and Adiponectin in Endometrial Cancer / A. Słabuszewska-Jóźwiak, A. Lukaszuk, M. Janicka-Kośnik [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – № 10. – P. 5307.

181. Saad, R. A. The relationship between anemia and obesity / R.A. Saad, H.M. Qutob // *Expert Review of Hematology*. – 2022. – Vol. 15. – № 10. – P. 911–926.

182. Salamonsen, L.A. Cyclical endometrial repair and regeneration / L.A. Salamonsen, J.C. Hutchison, C.E. Gargett // *Development*. – 2021. – Vol. 148. – № 17. – P. dev199577.

183. Semenza, G.L. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia / G.L. Semenza // *Journal of Applied Physiology*. – 1985. – Vol. 88. – № 4. – P. 1474–1480.

184. Semenza, G.L. Hydroxylation of HIF-1: oxygen sensing at the molecular level / G.L. Semenza // *Physiology (Bethesda)*. – 2004. – Vol. 19. – P. 176–182.

185. Shrivastava, S. Polycystic Ovarian Syndrome / S. Shrivastava, R.L. Conigliaro // *The Medical Clinics of North America*. – 2023. – Vol. 107. – № 2. – P. 227–234.

186. Single-cell transcriptomic atlas of the human endometrium during the menstrual cycle / W. Wang, F. Vilella, P. Alama [et al.] // *Nature Medicine*. – 2020. – Vol. 26. – № 10. – P. 1644–1653.

187. Snider, A.P. Obesity induces ovarian inflammation and reduces oocyte quality / A.P. Snider, J.R. Wood // *Reproduction*. – 2019. – Vol. 158. – № 3. – P. R79–R90.

188. Study on relationship between obesity and menstrual disorders / L.C. Sen, I.J. Annee, N. Akter [et al.] // *Asian Journal of Medical and Biological Research*. – 2018. – Vol. 4. – № 3. – P. 259.

189. Subcutaneous adipose tissue and systemic inflammation are associated with peripheral but not hepatic insulin resistance in humans / B.W. van der Kolk, M. Kalafati, M. Adriaens [et al.] // *Diabetes*. – 2019. – Vol. 68. – № 12. – P. 2247-2258.

190. Subtype-Specific Surface Proteins on Adipose Tissue Macrophages and Their Association to Obesity-Induced Insulin Resistance / K. Strand, N. Stiglund, M.E. Haugstøyl [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 856530.

191. Taylor, E.B. The complex role of adipokines in obesity, inflammation, and autoimmunity / E.B. Taylor // *Clinical Science*. – 2021. – Vol. 135. – № 6. – P. 731-752.

192. The cytokine profile of menstrual blood / Y. Crona Guterstam, B. Strunz, M.A. Ivarsson [et al.] // *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*. – 2021. – Vol. 100. – № 2. – P. 339-346.

193. The impact of menstrual symptoms on everyday life: a survey among 42,879 women / M.E. Schoep, T.E. Nieboer, M. van der Zanden [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2019. – Vol. 220. – № 6. – P. 569.e1-569.e7.

194. The impact of obesity and bariatric surgery on the immune microenvironment of the endometrium / A. Naqvi, M.L. MacKintosh, A.E. Derbyshire [et al.] // *International Journal of Obesity*. – 2022. – Vol. 46. – № 3. – P. 605-612.

195. The interaction effect of angiogenesis and endothelial dysfunction-related gene variants increases the susceptibility of recurrent pregnancy loss / E.A. Trifonova, M.G. Swarovskaya, O.A. Ganzha [et al.] // *Journal of assisted reproduction and genetics*. – 2019. – Vol. 36. – № 4. – P. 717-726.

196. The obesity-breast cancer link: a multidisciplinary perspective / E.N. Devericks, M.S. Carson, L.E. McCullough [et al.] // *Cancer Metastasis Reviews*. – 2022. – Vol. 41. – № 3. – P. 607-625.

197. The Role of ESR1 Gene Polymorphic Markers in the Development of Breast Cancer and Resistance to Tamoxifen Therapy / S.S. Lukina, A.M. Burdenny, T.M. Zavarykina [et al.] // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2021. – Vol. 170. – № 3. – P. 350-355.

198. The role of fat distribution and inflammation in the origin of endometrial cancer, study protocol of the ENDOCRINE study / A.A.S. van den Bosch, J.M.A. Pijnenborg,

A. Romano [et al.] // PLoS One. – 2022. – Vol. 17. – № 10. – P. e0276516.

199. The Role of Genetic Variants (rs869109213 and rs2070744) Of the eNOS Gene and BglII in the  $\alpha 2$  Subunit of the  $\alpha 2\beta 1$  Integrin Gene in Diabetic Retinopathy in a Tunisian Population / F. Midani, Z. Ben Amor, M.A. El Afrit [et al.] // Seminars in ophthalmology. – 2019. – Vol. 34. – № 5. – P. 365-374.

200. The role of mesenchymal-epithelial transition in endometrial function / A. Owusu-Akyaw, K. Krishnamoorthy, L.T. Goldsmith, S.S. Morelli // Human Reproduction Update. – 2019. – Vol. 25. – № 1. P. 114-133.

201. The Roles of Adipose Tissue Macrophages in Human Disease / W. Liang, Y. Qi, H. Yi [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2022. – Vol. 13. – P. 908749.

202. The two FIGO systems for normal and abnormal uterine bleeding symptoms and classification of causes of abnormal uterine bleeding in the reproductive years: 2018 revisions / M.G. Munro, H.O.D. Critchley, I.S. Fraser, for the FIGO Menstrual Disorders Committee // International Journal of Gynaecology and Obstetrics. – 2018. – Vol. 143. – № 3. – P. 393–408.

203. Thomas, D. Macrophage functions in lean and obese adipose tissue / D. Thomas, C. Apovian // Metabolism. – 2017. – Vol. 72. – P. 120-143.

204. Three-dimensional understanding of the morphological complexity of the human uterine endometrium / M. Yamaguchi, K. Yoshihara, K. Suda [et al.] // iScience. – 2021. – Vol. 24. – № 4. – P. 102258.

205. To determine the association between endometrial polyp and metabolic syndrome / S. Rasool, S. Raffique, M. Bashir [et al.] // Pakistan Journal of Medical & Health Sciences. – 2022. – Vol. 16. – № 2. – P. 213-215.

206. Transcriptional Response to Hypoxia: The Role of HIF-1-Associated Co-Regulators / A. Yfantis, I. Mylonis, G. Chachami [et al.] // Cells. – 2023. – Vol. 12. – № 5. – P. 798.

207. Transforming Growth Factor (TGF)  $\beta$  and Endometrial Vascular Maturation / Q. Lu, D. Sun, S.B. Shivhare [et al.] // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2021. – Vol. 9. – P. 640065.

208. Understanding the Impact of Uterine Fibroids on Human Endometrium Function

/ A. Navarro, M.V. Bariani, Q. Yang, A. Al-Hendy // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2021. – Vol. 9. – P. 633180.

209. Uribe-Querol, E. Neutrophils Actively Contribute to Obesity-Associated Inflammation and Pathological Complications / E. Uribe-Querol, C. Rosales // *Cells*. – 2022. – Vol. 11. – № 12. – P. 1883.

210. Uterine bleeding: how understanding endometrial physiology underpins menstrual health / V. Jain, R.R. Chodankar, J.A. Maybin, H.O.D. Critchley // *Nature Reviews. Endocrinology*. – 2022. – Vol. 18. – № 5. – P.290-308.

211. Uterine disorders and iron deficiency anemia / J. Donnez, F. Carmona, L. Maitrot-Mantelet [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2022. – Vol. 118. – № 4. – P. 615-624.

212. Vascular endothelial growth factor (VEGF) regulation by hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF1A) starts and peaks during endometrial breakdown, not repair, in a mouse menstrual-like model / X. Chen, J. Liu, B. He [et al.] // *Human Reproduction*. – 2015. – Vol. 30. – № 9. – P. 2160-2170.

213. Watters, M. The Menstrual Endometrium: From Physiology to Future Treatments / M. Watters, R. Martínez-Aguilar, J.A. Maybin // *Frontiers in Reproductive Health*. – 2022. – Vol. 3. – P. 794352.

214. Weight change across adulthood in relation to all cause and cause specific mortality: prospective cohort study / C. Chen, Y. Ye, Y. Zhang [et al.] // *BMJ*. – 2019. – Vol. 367. – P. 15584.

215. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. – 2000.

216. World Health Organization. The global prevalence of anaemia in 2011. – 2015.

217. World Obesity Atlas 2023 / T. Lobstein, R. Jackson-Leach, J. Powis [et al.]. – World Obesity Federation. United Kingdom. – 2023. – P. 232.

218. World Obesity Federation. Obesity: missing the 2025 global targets Trends, Costs and Country Reports. – 2020.

219. Wouk, N. Abnormal uterine bleeding in premenopausal women / N. Wouk, M. Helton // *American Family Physician*. – 2019. – Vol. 99. – № 7. – P. 435–443.

220. Yang, X. The Role of Metabolic Syndrome in Endometrial Cancer: A Review / X. Yang, J. Wang // *Frontiers in Oncology*. – 2019. – Vol. 9. – P. 744.

221. Yoshii, A. Role of Microenvironment and Transient Tissue Hypoxia in Regeneration of the Endometrium / A. Yoshii, H. Ueta, S. Kitahara // *Journal of Tokyo Women's Medical University*. – 2019. – Vol. 89. – P. E110-E117.