

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*

**ПИМАНЧЕВА ЮЛИЯ ИГОРЕВНА**

**Клиническое значение экспресс-диагностики  
доброкачественных заболеваний матки с  
использованием неупругого светового рассеивания**

14.01.01- Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

Доктор медицинских наук, профессор

ЗУЕВ Владимир Михайлович

Москва – 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)</b> .....	17
1.1.Предимплантационная перестройка эндометрия.....	19
1.2.Этиология и современный взгляд на вопросы патогенеза хронического эндометрита и гиперплазии эндометрия.....	24
1.3.Классификация, морфология и молекулярно-биологические особенности гиперплазии эндометрия.....	29
1.4.Клиническая картина, современные методы диагностики и лечения гиперплазии эндометрия и хронического эндометрита.....	35
1.5.Лазерная конверсионная диагностика и фото-иммунная терапия.....	44
1.6.Применение аутофлюоресценции в клинической медицине и гинекологии.....	49
<b>ГЛАВА 2. ПАЦИЕНТЫ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	
2.1. Обоснование выбора аппаратуры, методов исследования и алгоритмов лечения.....	58
2.2. Пациенты.....	60
2.3.Лабораторные и инструментальные методы исследования.....	63
2.4.Метод диагностики – лазерная конверсионная диагностика (ЛКД).....	67
2.5.Метод лечения – объемная фото-ингибирующая (фото-иммунная) терапия.....	72

<b>ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ АКТИВИРОВАННОГО ХЛОРОФИЛЛ СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ.....</b>	<b>74</b>
3.1. Моделирование объемной ФИГТ in vitro.....	81
3.2. Изучение эффекта накопления активированного и не активированного препарата X в органы и ткани (мышцы).....	85
3.3. Апробация методики объемной активированной ФИГТ при лечении опухолей (карцинома Эрлиха у мышей).....	89
<b>ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ.....</b>	<b>91</b>
<b>ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ НАБЛЮДЕНИЙ.....</b>	<b>103</b>
<b>ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>115</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>129</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>131</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>	<b>132</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>133</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Доброкачественные заболевания эндометрия, воспалительного, дисгормонального и неопластического характера – гиперплазия эндометрия (ГЭ), полипы эндометрия (ПЭ), хронический эндометрит (ХЭ), «гормональная регрессия эндометрия» (ГРЭ) - занимают важное место среди женских болезней. Частота их высока, до сих пор не имеет тенденции к снижению. Клинические проявления представленных заболеваний являются совокупным отражением метаболических, морфологических и функциональных нарушений в репродуктивной системе женщины. Кроме всего, в современном обществе эта проблема уже приобрела социальный характер, поскольку тесно сопряжена с кровотечениями и снижением «качества жизни», с бесплодием и возрастанием риска возникновения и развития рака. [4, 9, 13, 108,109, 200]

Хронический эндометрит, гиперплазия и полипы эндометрия, функциональная несостоятельность эндометрия в виде отсутствия его циклических превращений в пределах менструального цикла являются частой причиной бесплодия, а именно нарушения условий для имплантации плодного яйца в естественных менструальных циклах и программах ВРТ, остановки развития беременности на ранних сроках (неразвивающейся беременности) и ее самопроизвольному аборту. [11, 19, 23, 108, 11, 210]

Аномальные маточные кровотечения, (особенно рецидивирующие), обусловленные хроническим эндометритом и гиперплазией эндометрия зачастую приводят к соматическим и психоэмоциональным последствиям – анемии, депрессии, тревожно-депрессивным расстройствам.

Это способствует дезадаптации, снижению качества жизни и социальной роли женщины, изменению ролевых отношений. [5,44, 46, 48, 53, 174]

В современном мире изменились место и роль гиперпластических процессов эндометрия в развитии рака эндометрия – снизился «возраст» женщин, у которых возник и диагностирован рак эндометрия, повысилась частота пациенток с рецидивирующей ГЭ с последующей трансформацией в рак, увеличились случаи диагностики рака тела матки у совсем молодых (25-30 лет) женщин. [13, 14, 32, 148, 163]

В последние десятилетия существенно увеличилось количество женщин с «отягощенным» гинекологическим анамнезом в виде многократных «травмирующих» внутриматочных вмешательств – диагностических выскабливаний эндометрия, которые практически не выполняются в зарубежных странах, воспалительных заболеваниях матки и персистирующей вирусной инфекцией, прежде всего, связанной с вирусом папилломы человека (ВПЧ) и цитомегаловирусной инфекцией. Преобладающей областью их целевого поражения является шейка матки с развитием дисплазии. Однако, вирусное поражение эндометрия также не исключается, особенно у пациенток со сниженным иммунитетом. [5, 9, 33, 34, 122, 179, 208]

Особое место занимают гиперпластические процессы эндометрия у женщин, которые по разным причинам – медицинским и социальным – не реализовали свою репродуктивную функцию. Так или иначе у них не возникли беременности в силу невозможности зачатия естественным путем (отсутствие маточных труб) или возрастных особенностей (старший репродуктивный возраст) или иной гинекологической патологии. Как следствие, им приходится прибегать к вспомогательным репродуктивным технологиям (ВРТ) – экстракорпоральному оплодотворению (ЭКО и ИКСИ) и переносу эмбриона. Развитие гиперпластических процессов эндометрия не просто ограничивает возможность ЭКО, но порою ставит его под сомнение или вовсе исключает в случае пограничных с раком состояний. Высокая гормональная нагрузка потенциально может инициировать развитие аденокарциномы при атипичской гиперплазии эндометрия. [32, 34, 56, 61, 193]

Подобные современные тенденции развития доброкачественных и пограничных заболеваний эндометрия свидетельствуют о важной роли не только своевременной эффективной скрининговой диагностики, но и конкретном эффективном адекватном лечении и его объективном экспресс-мониторинге «по месту» на принципах обратной связи с минимальной инвазивной нагрузкой. [8, 9, 22, 195]

Современные диагностические подходы, методы и технологии многогранны, высоко информативны и относительно надежны и адекватны. Широко применяются не инвазивные ультрасонография и цветное доплеровское картирование, доплерометрия. В многопрофильных и специализированных центрах для углубленной диагностики используется магнитно-резонансная томография. Однако все они несут «предположительную» информацию, так как полученные результаты в большинстве своем не соответствуют современным требованиям ВОЗ – диагностике «по месту», т.е. непосредственно в момент обследования и лечения больной. Это относится к индивидуально проявляющимся и изменяющимся в реальном масштабе времени метаболическим, морфометрическим и функциональным характеристикам тканей и органов женской репродуктивной системы. Кроме того, для применения вышеуказанных методов требуется дорогостоящее ультразвуковое оборудование и «многомиллионный» томограф. А для верификации диагноза требуется морфологический анализ субстрата и две-четыре недели ожидания результатов исследования. [7, 18, 29, 149, 176]

Долгое время «стандартом» диагностики гиперпластических и иных процессов эндометрия являлись гистероскопия и отдельное диагностическое выскабливание и последующим гистологическим исследованием. Вместе с тем, являясь травматичным, данный метод наряду с вынужденной диагностической потребностью выполнения, активирует воспаление и

оказывает выраженное отрицательное воздействие на эндометрий и репродуктивную систему в целом. [39, 46, 48, 57, 68, 137]

В связи с этим в настоящее время преимуществом пользуются малоинвазивные методы - офисная гистероскопия и биопсия эндометрия, пайпель-биопсия с дальнейшим морфологическим и иммуногистохимическим исследованием. Морфологические методы не дают немедленных результатов и также требуют времени для исполнения. [7, 42, 46, 67, 147, 155]

Важная роль в оценке сущности патологических процессов в органах репродуктивной системы и в эндометрии, в частности, принадлежит молекулярно-генетическим исследованиям – определению профиля метилирования генов при неоплазиях различного гистологического строения. Однако, надо принять во внимание, что эти методы являются дополнительными, трудоемкими и дорогостоящими и также продолжительны в исполнении. [67, 122, 124, 156, 204]

Таким образом, принимая во внимание высокую информативность основных методов диагностики, следует отметить, что одни из них (УЗИ и томография) не инвазивны и моментально результативны, но не дают точной информации о сущности метаболических, морфо-функциональных и патофизиологических изменений в эндометрии, другие – инвазивны и травматичны (выскабливание эндометрия), третьи – требуют определенного времени для исполнения и дорогостоящие (морфологические, иммуногистохимические и молекулярно-биологические). Последние используются в немногочисленных крупных лабораториях. [156, 166, 204]

В последние годы в результате проведенных фундаментальных научных исследований в области лазерной физики, спектроскопии и волоконной оптики разработаны и внедрены в медицинскую практику экспресс-диагностические методы исследования с использованием лазерной конверсионной диагностики (ЛКД) и ее спектральной раман- флюоресцентной составляющей. Метод Рамановской, люминисцентной спектроскопии -метод экспресс-анализа тканей (отражает метаболизм, морфометрические особенности, функциональное состояние и структурированность тканей) и органических веществ и основан на явлении упругого и неупругого рассеяния оптического излучения на молекулах, например, биологических субстратов (рамановское, комбинированное рассеивание и нетепловое свечение, люминесценция вещества (ткани), происходящего после поглощения им энергии возбуждения света. Диагностическая технология ЛКД основана на регистрации спектров раман- и / или люминесцентного свечения. [1, 7, 8, 146, 149]

Оптические методы ЛКД (ее раман/или люминесцентная составляющие) диагностики все больше привлекают внимание исследователей и практических врачей вследствие их высокой информативности, высокой чувствительности и специфичности и, главное, неинвазивности. В последние десятилетия разработаны и применяются методы лазерной флюоресцентной диагностики, в том числе и в гинекологии. Эти методы основаны на определении собственной флюоресценции тканей, главным образом, с использованием экзогенных фотосенсибилизаторов. Однако эти вещества не лишены побочных эффектов (повышенное световосприятие, аллергические реакции), а приборы, регистрирующие отраженные сигналы колебровочно несовершенны. Разработанные в последние годы программно-аппаратные комплексы обладают спектральным разрешением в пределах  $1\text{\AA}$ , что в 60-80 раз выше, существующих отечественных и зарубежных аналогов, а также в  $10^3$  -  $10^4$  раз чувствительнее ранее использованных методик. Новые программно-аппаратные комплексы в  $10^7$  раз более чувствительны при дополнительном

использовании биосенсорных SERS-подложек. Раман-флюоресцентные технологии (РФТ) обеспечивают выявление индивидуальных амплитудно-спектральных характеристик молекул различных веществ и биологических объектов, что соответствует понятию (“отпечатки пальцев”), база данных которых заложена в аппаратно-программном РФ-комплексе и автоматически пополняется. Это позволяет проводить высокоточный экспресс-анализ веществ и биологических объектов (клеток, тканей, биологических жидкостей) в норме и при патологии течение 1-10 секунд. В клинической практике - это экспресс-диагностика, выбор средств медикаментозной поддержки, мониторинг, оценка эффективности лечения и реабилитации больных с заболеваниями микробной и неопластической этиологии. РФ-комплексы и медицинские технологии на их основе отличаются высокой точностью, воспроизводимостью, простотой, надежностью и достоверностью полученных результатов диагностики. Кроме того, использование зондирующего лазерного излучения аппаратно-программных комплексов «ИнСпектр М» позволяет применять его в качестве лечебного фактора. Это определяет ЛКД методологию как лечебно-диагностическую. [26]

Проведенные до настоящего времени экспериментальные и клинические исследования с использованием ЛКД технологии позволили определять [8, 26]:

- ✓ индикацию клеточной пролиферативной активности эндометрия
- ✓ оценку интенсивности микроциркуляции
- ✓ оценку интенсивности аэробного и анаэробного метаболизма (соответствие специфичности спектра аэробному или анаэробному типу метаболизма)
- ✓ оценку морфометрической и функциональной структурированности-соответствие нормальных и измененных тканей по отношению ко дню менструального цикла, мониторинг их клеточных и тканевых изменений

- ✓ Оценку эффективности лечения, его мониторинг, определение сроков реабилитации пациентки.

Однако эти исследования по определению метаболических и структурно-функциональных изменений касаются только воспалительных заболеваний женских половых органов и прежде всего хронических эндометритов, общехирургической патологии и других заболеваний, и процессов микробной и опухолевой природы. Исследования по экспресс-диагностике гиперпластических процессов, мониторинга их лечения, оценки его эффективности, аппаратно-программное обеспечение, алгоритмы и клинические методики исследования эндометрия к моменту настоящего исследования не разрабатывались. [8]

Методы лечения гиперпластических процессов эндометрия относительно хорошо разработаны. Применяются консервативные методы (гормональные препараты - эстроген-гестогенные, гестогенные препараты, агонисты и антагонисты гонадотропинов, а также хирургические технологии – лазерная абляция эндометрия, резектоскопия, радикальные операции) [5]. Однако для женщин с бесплодием, особенно в программах ВРТ, большинство этих методов не подходят или неприемлемы [26, 166]. Поэтому поиск оптимальных и рациональных методов как диагностики, так и лечения указанной патологии актуален и активно продолжается.

### **Цель исследования**

Повысить эффективность и качество диагностики и лечения гиперпластических процессов эндометрия у женщин с хроническим эндометритом и бесплодием в программах ВРТ на основе использования в комплексном лечении лазерной конверсионной экспресс-диагностики и объемной фото-иммунной терапии.

### Задачи исследования

1. Разработать концепцию лазерной конверсионной экспресс-диагностики, дизайн её экспериментально-теоретического обоснования и клинического применения.
2. Изучить клиническую и морфологическую картину гиперпластических процессов эндометрия (ГПЭ) и хронического эндометрита у женщин с бесплодием в программах ВРТ старше 30 лет.
3. Разработать алгоритм и определить информативные показатели лазерной конверсионной диагностики (ЛКД) нормального и патологически измененного эндометрия при гиперпластических процессах и у женщин с иной (трубно-перитонеальной) формой бесплодия в возрастной категории старше 30 лет.
4. На основе применения ЛКД технологий (раман- и флюоресцентная составляющая) экспериментально обосновать медицинскую технологию объемной фото-ингибирующей и фото-иммунной терапии, активированной лазерным излучением (ФИТ) с применением хлорофилл содержащего препарата.
5. Разработать клинический метод объемной лазерной фото-ингибирующей и фото-иммунной терапии для лечения ГПЭ у женщин с бесплодием в программах ВРТ
6. Оценить клиническую эффективность разработанных методов ЛКД экспресс-диагностики и объемной фото-ингибирующей и фото-иммунной терапии у женщин с бесплодием.

## **Научная новизна**

Впервые произведена оценка патогенеза патологических состояний эндометрия у женщин старшего репродуктивного возраста, страдающих бесплодием и участвующих в программах ВРТ. Определены роль и значение хронического эндометрита и гиперпластических процессов в патогенезе «рефрактерного» эндометрия и определена тактика ведения такого контингента пациенток.

Разработан высокочувствительный метод лазерной конверсионной экспресс-диагностики гиперпластических и воспалительных процессов эндометрия. Создан алгоритм диагностических и лечебных мероприятий для женщин с бесплодием и ГПЭ на этапах прегравидарной подготовки. Впервые изучены спектральные характеристики различных форм гиперплазии эндометрия у женщин с бесплодием, на основе которых разработан объективный комплексный метод фото-ингибирующей и фото-иммунной терапии женщин с гиперпластическими процессами эндометрия, планирующих беременность с использованием хлорофилл содержащего препарата природного происхождения.

Впервые произведена оценка эффективности лазерной конверсионной экспресс-диагностики гиперпластических процессов эндометрия и клинической эффективности, фото-ингибирующей и объемной фото-иммунной терапии, активированной лазерным излучением с использованием природного хлорофилл содержащего препарата у женщин с бесплодием в программах ВРТ.

## **Практическая значимость**

Разработана и внедрена в практику неинвазивная лазерная конверсионная экспресс-диагностика гиперпластических и воспалительных процессов эндометрия. Разработан метод гистероспектроскопии, позволяющий проводить прицельную «оптическую» биопсию с высокой

степенью корреляции с гистологическим исследованием. Определены спектрометрические характеристики различных изолированных форм гиперпластических процессов и в сочетании с хроническим эндометритом. Определены показания, условия и методики проведения лазерной конверсионной спектроскопии у женщин с гиперплазией эндометрия, хроническим эндометритом и бесплодием. Выявлена зависимость спектроскопических картин эндометрия от формы, распространенности и локализации очаговых и диффузных вариантов гиперплазии и от формы (очаговый, диффузный) хронического эндометрита.

Разработан и внедрен в практику высокоэффективный негормональный метод лечения ГПЭ, основанный на объемной фото-ингибирующей и фото-иммунной терапии, активированной лазерным излучением с применением безопасных природных хлорофилл содержащих препаратов.

### **Методология и методы диссертационного исследования**

В работе использованы клинические, инструментальные и лабораторные методы исследования. Объектом исследования явились женщины репродуктивного возраста, имеющие в анамнезе заболевания такие как эндометрит (в том числе хронический), полип эндометрия, дисфункция эндометрия, гиперплазия эндометрия, невынашивание беременности, так же оперативное лечение в объеме гистероскопия и отдельное диагностическое выскабливание;

Предмет исследования – результаты обследования данной категории женщин. Результаты, полученные в ходе работы, проанализированы с применением методов статистического анализа.

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

1. Лазерная конверсионная экспресс-диагностика (люминесцентная составляющая) позволяет не инвазивно и мгновенно диагностировать наличие гиперпластического процесса эндометрия у женщин с бесплодием.
2. Флюоресцентная спектральная экспресс-диагностика позволяет определять патогенетические механизмы развития гиперпластических процессов эндометрия и способствует саногенетической оптимизации тактики ведения и лечения пациенток.
3. Лазерная конверсионная экспресс-диагностика обеспечивает мониторинг накопления хлорофилл содержащего препарата в тканях эндометрия и динамику изменения его метаболизма, их структуры и функции.
4. Метод объемной фото-ингибирующей и фото-иммунной терапии гиперпластических процессов эндометрия у женщин с бесплодием в программах ВРТ является высоко эффективным не хирургическим и негормональным альтернативным способом лечения.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Метод лазерной конверсионной экспресс-диагностики и объемной фото-иммунной терапии используется в практике клиники акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева, Лечебно-реабилитационного центра Минздрава РФ, клиники репродуктивного здоровья АРТ-ЭКО, клиники репродукции человека г. Барнаула, Российского центра репродукции человека г. Сочи

Работа выполнена на клинических и лабораторных базах ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр

онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Лечебно-реабилитационного центра МЗ РФ, Клиники репродуктивного здоровья АРТ-ЭКО.

### **Апробация результатов исследования**

Основные материалы диссертации представлены и обсуждены на: XXV Юбилейной международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра», Сочи 2015, Ежегодных научно-практических конференциях «Снегиревские чтения 2015-2018 гг., Москва, XVI международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы науки XXI века», Москва, 2016, XI международном конгрессе по репродуктивной медицине., Москва 2017, XVII Всемирном конгрессе по репродукции человека, Рим, 2017, XII конгрессе «Европейского Общества акушеров-гинекологов», Барселона, 2017, XII Международном конгрессе по репродуктивной медицине, Москва, 16-19 января 2018 г., XVIII Всемирном конгрессе по эндокринологической гинекологии.

Апробация диссертации состоялась на заседании сотрудников кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Минздрава России 25 апреля 2018 г. (Протокол № 6).

### **Личный вклад автора**

Автор подготовил обзор данных отечественных и зарубежных источников литературы по теме исследования, сформулировал цель и задачи. Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, анализе и обобщении полученных результатов. Автором проводился набор пациенток для исследования, составлена компьютерная база данных, проведена аналитическая и статистическая обработка полученных результатов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования от постановки задач и их клинической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах.

### **Соответствие паспорту научных исследований**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология, а также области исследования согласно п. 4 - Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний. Оптимизация диспансеризации беременных и гинекологических больных.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, отражающих содержание диссертации, из них 2 статьи опубликованы в журналах включенных в перечень ведущих периодических изданий ВАК Минобрнауки России.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, 6 глав: Современный взгляд на проблему диагностики и лечения гиперпластических и воспалительных процессов эндометрия у женщин с бесплодием (глава I), пациенты, материалы и методы исследования (глава II), экспериментально-теоретическое обоснование применения активированного хлорофилл содержащего препарата для клинического применения при лечении гиперпластических процессов эндометрия (глава III), клиническая характеристика больных (глава IV), результаты клинических наблюдений (глава V), обсуждение результатов и заключение (глава VI) а также выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 213 источника, из которых 142 источников – отечественные, 71 – зарубежных авторов. Работа изложена на 131 странице машинописного текста, иллюстрированного 8 таблицами и 19 рисунками и таблицами.

## **ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ** *(Обзор литературы)*

Проблема гиперпластических процессов эндометрия (ГПЭ) у женщин репродуктивного возраста продолжает оставаться актуальной как с позиций сохранения и восстановления утраченной репродуктивной функции, так и с позиции профилактики рака матки. Особенностью современной тенденции является повышение заболеваемости ГПЭ и раком эндометрия среди молодых (до 40 лет) женщин, многие из которых еще не успели реализоваться в репродукции и даже не имели ни одной беременности [11,44,56]. При этом частота бесплодия в разных регионах России достигает 30% [103,107,131,163].

Одной из наиболее частых причин нарушения механизмов имплантации и сопутствующего бесплодия является хронический эндометрит, встречающийся у 70% гинекологических больных [Сухих Г. Т., 2010]. По данным Унанян А. Л. (2012) частота ХЭ среди гинекологических больных достигает 85%. Биологическая особенность эндометрия состоит в том, что его циклические превращения зависят не только от гормональных влияний со стороны яичника, но и многочисленных локальных взаимоотношений, в том числе между стероидами и рецепторным аппаратом. А в результате хронического воспаления нарушаются практически все механизмы его регуляции – микроциркуляция, оксигенация, пролиферация, метаболизм. В последние 10-15 лет гиперплазия эндометрия, хронический эндометрит и нарушение процессов имплантации рассматриваются с позиции общих звеньев патогенеза. [5, 15, 19, 152] Накопленные к настоящему времени данные в области морфологии, молекулярно-генетических механизмов и патогенеза ГЭ и ХЭ диктует необходимость рассмотрения нарушения имплантации и бесплодия с общих патофизиологических позиций.

Заслуживает внимания повышенный риск малигнизации атипических форм ГЭ у женщин с сочетанной патологией матки на фоне ХЭ. [8, 107, 131, 121]. По мнению некоторых авторов, одновременное развитие ГЭ и ХЭ должны рассматриваться как маркер риска развития онкопатологии и рака молочных желез [5, 29, 46, 75, 167, 186]

Гиперплазия эндометрия и хронический эндометрит нередко являются причиной аномальных маточных кровотечений, которые при рецидивирующем характере приводят к соматическим и психоэмоциональным последствиям – анемии, тревожно-депрессивным и депрессивным расстройствам. Снижается социальная роль женщины [4, 101]

В настоящее время при регулярной половой жизни и не наступлении беременности в течение 6 месяцев некоторые авторы уже рассматривают вопрос о вспомогательных репродуктивных технологиях (ВРТ) и экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) [73-75]

Заслуживает внимания и возрастной аспект пациенток, прибегающих к ВРТ. Как правило, это женщины 35 лет и старше. Несомненно, к этому времени накапливается «анамнестический багаж» в виде ятрогенных травм в виде выскабливаний стенок полости матки, снижение гормональной активности яичников спонтанно или в результате оперативного лечения и т. д. [118, 163].

Таким образом, анализ данных литературы свидетельствует о том, что каждое из рассматриваемых патологических состояний, имеют собственную значимость в жизни женщины как в клиническом, так и социальном аспекте. И гиперплазия эндометрия, и хронический эндометрит имеют общие причинно-следственные отношения, патогенетические механизмы, результатом которых является нарушение процесса имплантации и бесплодие. Применительно к ВРТ - это отсутствие имплантации при переносе эмбриона (ПЭ) и неуспешные попытки ВРТ.

## 1. 1 Предимплантационная перестройка эндометрия

Предимплантационная перестройка эндометрия охватывает изменения во всех отделах многокомпонентной системы - в железистом эпителии, в строме, основном веществе, в сосудах и нервных структурах. По мнению А. П. Милованова (2000, 2011) менструальный цикл – сложная, этапная перестройка эндометрия матки под влиянием строго сбалансированных, ауто- и паракринных регуляторных механизмов, в результате чего формируется «окно имплантации». Наиболее важными механизмами, обеспечивающими условия для имплантации, являются развитая капиллярная сеть, микроциркуляция, оксигенация тканей, пролиферативная активность клеток эпителия и стромы, метаболизм и готовность нейро-рецепторного аппарата эндометрия. Иницирующую роль играют гипоталамо-гипофизарные связи.

Известно, что происходящие в эндометрии процессы многогранны и наблюдаются в объектах разных уровней организации - клеточном, молекулярном, тканевом, органном уровнях. В них принимают участие фибробласты, стволовые, тучные клетки, Т- и В- лимфоциты, натуральные киллерные (NK) клетки, моноциты-макрофаги и др. Локальные клеточные и молекулярные взаимоотношения в эпителии и строме, а также межклеточные взаимодействия осуществляются через межклеточное вещество – экстрацеллюлярный матрикс, факторы роста и противовоспалительные цитокины (VEGF, ФНО - $\alpha$ , ИФН - $\gamma$ , M-CSF, SCF, LIF, EGF, TGF- $\beta$ , HGF, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и т. д. [33, 205, 213]. Многие из них играют ключевую роль в имплантации. Обладая паракринными и аутокринными регулирующими эффектами, они контролируют межклеточные взаимоотношения (клетка-клетка, клетка-матрикс и т. д.). Существуют многочисленные механизмы, ограничивающие или способствующие процессу инвазии, участниками которых являются адгезивные молекулы, клеточные рецепторы, цитоскелет, внеклеточный матрикс, металлопротеиназы и их ингибиторы, цитокины. Особое место в системе в регуляции циклической

перестройки эндометрия, подготовки его к имплантации занимает система инсулиноподобных факторов (IGFs). Компоненты системы IGFs включают пептиды IGF-I и IGF-II, два трансмембранных рецептора, семейство IGF-связывающих белков (IGFBP-1-6) и (IGFBP-протеаз) [48, 50,]. Подавляющее большинство заключений о функциональной роль IGFBP -1 в имплантации были основаны на исследовании модельных систем (культуры клеток *in vitro*, экспериментальные животные) или клинических данных о содержании IGFBP-1 в сыворотке крови при патологии беременности, приводящей к пре-эклампсии или внутриутробной задержке роста плода. [53, 192]. Это свидетельствует о том, что имплантация и её патогенетическое протекание существенно влияет на дальнейшее течение беременности на всем её протяжении.

Большая роль в организации функции репродуктивной системы в целом, и в предимплантационной перестройки эндометрия принадлежит сосудистым коммуникациям и циркуляции по ним элементов крови. Этот процесс включает два механизма: васкулогенез – возникновение вновь или аутохонно (*in situ*) капилляров из мезодермально производных, мезенхимальных клеток и ангиогенез – возникновение новых сосудов, чаще всего капиллярных предсуществующих сосудистых коммуникаций. Васкуло- и ангиогенез обеспечивают сосудистые связи в системе «мать-плацента-эмбрион». Эти важные процессы регулируются про- и антиангиогенными факторами – васкулоэндотелиальным фактором роста (VEGF) и его рецепторами, плацентарным фактором роста (PIGF), семейством ангиопоэтинов и гипоксический фактор. Местная гипоксия в эндометрии, в тканях эмбриона и межворсинчатом пространстве ранней плаценты, является мощным фактором, регулирующим васкуло- и ангиогенез. [49,51,53,190]. В этих условиях активизируется дифференцировка эндотелиоцитов и рост кровеносных капилляров.

Ангиогенез-генерация новых кровеносных сосудов из предшествующих включает локальную пролиферацию эндотелиоцитов, образование выпячиваний, новых петель капилляров, формирование из них сети или увеличение числа, удлинение капиллярных сегментов. Ангиогенез осуществляется во взаимодействии с другими, соседними клетками, окруженные матриксом и включает в себя вазодилатацию и увеличение сосудистой проницаемости новообразованных сосудов, активацию ферментов-протеаз, увеличение пролиферации эндотелиальных клеток и их миграцию, соединение новых эндотелиоцитов в виде трубочек с просветами, появление перицитов вокруг капилляров. [Charnock-Jones D. S., Kaufmann et al., 2004].

Таким образом, васкуло- ангиогенез в экстрэ эмбриональных структурах стимулируются факторами роста, обладающими тропизмом к эндотелиальным клеткам, являющимися кислород-восприимчивыми и действующими в условиях местной гипоксии путем кооперации VEGFA и Ang-1, стимулирующими аутохонное образование первичных капилляров и капиллярных петель или почек в зоне развивающихся органов. [51]

В регуляции локального гемостаза участвуют тканевой фактор (TF) ингибитор тканевого активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1), CD-40 лиганд- аналог фактора некроза опухоли. Этот белок стимулирует также экспрессию хемокинов, интерлейкинов, противовоспалительных адгезивных молекул, Р- и Е- селектинов. [4,108,113,176]

Основой для несоблюдения условий для имплантации являются сосудистые нарушения, которые связаны как с локальным и системным воспалением, так и с гиперкоагуляцией, избытком образования тромбина, подавлением продукции антикоагулянтных белков и ингибиторов прокоагулянтных протеаз, подавлением системы фибринолиза [37,107]

Формирование микро- тромбозов в тканях эндометрия приводит к различной степени гипоксии тканей.

Перечисленные выше механизмы прегравидарной трансформации эндометрия наглядно демонстрируют всю её многогранность и сложность. Очевидно, что в случае не наступления беременности естественным путем при отсутствии прочих причин или после проведения программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона (ЭКО и ПЭ) определить причину несостоятельности эндометрия довольно сложно. Как правило, определение факторов роста, цитокинов, специфических белков являются предметом научных исследований и не распространены в широкой практике. Поэтому большинство клиницистов в повседневной практике оценивают морфологическое состояние эндометрия по данным гистологического исследования эндометрия, а функциональное - по данным динамического ультразвукового исследования и доплерометрии.

Морфологическое исследование эндометрия, как правило, является основополагающим в постановке диагноза. Главная проблема заключается в том, что для исследования необходим материал, который получается в результате биопсии или выскабливания стенок полости матки. Эти мероприятия являются инвазивными и влекут за собой отрицательные последствия - травматическое повреждение и разрушение рецепторного аппарата и сосудистого русла, активация воспаления и др. Как правило, кюретаж выполняется в условиях стационара с внутривенной анестезией. Биопсию эндометрия целесообразно произвести под гистероскопическим наблюдением. В амбулаторных условиях это возможно при «офисной» гистероскопии. Однако биоптат может быть поверхностным и содержать только эпителиальный компонент.

Менее «агрессивным» является биопсия эндометрия с помощью аспирационной кюретки Pipelle de Cornier. Однако такой забор материала

выполняется «вслепую» и может не отражать реальную морфологическую картину.

В последнее время все чаще стали прибегать к иммуногистохимическому исследованию с целью верификации хронического эндометрита и определения состояния рецепторов к половым стероидам. Метод является важным дополнением к морфологической характеристике эндометрия и помогает более полно интерпретировать клиническую картину. Однако субстратом для исследования также является ткань эндометрия, полученная в результате традиционного выскабливания.

Учитывая роль системы гемостаза в генезе нарушений имплантации, все чаще стали выполнять диагностику наследственной и приобретенной мультигенной формы тромбофилии, определение локального гемостаза и внутрисосудистых факторов свертывания крови.

Рутинным обследованием является диагностика инфекционных факторов – ПЦР и микробиологическое исследование.

Таким образом, подготовка эндометрия к имплантации представляет собой сложный многофакторный процесс локальных клеточных, сосудистых и эндотелиальных взаимодействий, результатом которых является изменение локального кровотока и активация иммунных реакций. Различные патологические состояния и, прежде всего воспаление сопровождаются нарушением кровотока, пролиферации клеток и метаболизма, активацией многочисленных иммунных реакций, что неизбежно приводит к нарушению имплантации.

Возможность не инвазивной диагностики состояния эндометрия в норме и при патологии открывает широкие перспективы как в репродуктивной медицине, так и в акушерстве и гинекологии в целом.

## **1. 2 Этиология и современный взгляд на вопросы патогенеза хронического эндометрита и гиперплазии эндометрия**

Хронический эндометрит (ХЭ) занимает одно из центральных мест в структуре воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин [46, 47, 52, 64]. С современных позиций ХЭ представляет собой клинко-морфологический синдром, характеризующийся комплексом морфофункциональных изменений эндометрия воспалительного генеза, приводящих к нарушению циклической биотрансформации и рецептивности слизистой оболочки матки. [7]. Как правило, он характеризуется вялотекущим, малосимптомным течением. При длительном течении приводит к аномальным маточным кровотечениям различного характера, потенцирует развитие гиперплазии эндометрия приводит к бесплодию и невынашиванию беременности, может осложнять течение беременности и родов [79,81,111,178 180].

По данным разных авторов, частота ХЭ составляет от 2. 3% до 19. 2% от общего числа проводимых биопсий эндометрия [164 24 170 173], при этом наиболее часто (более чем в 70% случаев) ХЭ выявляется у женщин с бесплодием и привычным невынашиванием беременности [18,106,111,144 181].

Важнейшими факторами, способствующими развитию ХЭ являются искусственные аборты, диагностические выскабливания, выскабливания стенок полости матки при замершей беременности, выскабливания матки в раннем послеродовом периоде, а также длительное пребывание в полости матки ВМК [134 156 209].

Среди факторов, способствующих развитию ХЭ, можно отнести инфекционно-воспалительные заболевания любой локализации, включая детские инфекции, частые ангины, колит, острый аппендицит и др. [47, 62, 161, 119].

Хронический эндометрит морфологически проявляется формированием в ткани эндометрия воспалительных инфильтратов из плазмоцитов (CD 138) моноцитов, макрофагов (CD 14, CD 68) полиморфноядерных лейкоцитов (CD 56) и сопровождается повышением экспрессии ФНО- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , VEGF, EGF, Ki-67, апо-протеина, коллагена, гипер- или гипоекспрессией ER и PR [82,108, 103, 139]

Хроническая микробная инвазия и длительно текущее воспаление вызывает в эндометрии резкий клеточный дисбаланс: увеличение содержания киллерных клеток (CD 56+, CD 16+), снижение Т-супрессоров, изменение соотношения между провоспалительными (IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$ ) и регуляторными (IL-4, IL-10) цитокинами, повышение HLA-DR+, стимулирует через продукцию TGF- $\beta$  макрофагами и фибробластами бессосудистый склероз в тканях с образованием коллагена III и IV типов. С другой стороны, за счет повышения экспрессии циклооксигеназы II типа (COX II) стимулирует синтез простагландина E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), VEGF и, как результат, неоангиогенез. Существуют данные о том, что PGE<sub>2</sub> ингибирует рост и миграцию фибробластов [143]

В норме синхронизация функции фибробластов и эндотелия осуществляется прямым взаимодействием между ними. Фибробласты секретируют фибронектин, коллагены, необходимые для регуляции неоангиогенеза. В исследованиях показано, что для роста эндотелия в культуре ткани необходима коллагеновая подложка, а культивирование эндотелиальных клеток в трехмерном коллагеновом геле приводит к образованию анастомозирующих капиллярных трубок с просветом [181] Эндотелиальные клетки, в свою очередь, оказывают влияние на пролиферацию и миграцию фибробластов через образование ИЛ-1, FGF, PDGF и др. [162 188].

Воспалительный процесс при ХЭ индуцирует изменение ангиоархитектоники ткани, что приводит к активации процессов

склерозирования, которые стимулируют пролиферацию клеток, ангиогенез и новый выброс цитокинов. Интенсивность склеротических изменений прямо пропорционально определяется степенью травмирования эндометрия.

Нарушение ангиоархитектоники при ХЭ выражаются в склерозировании стенок сосудов и образовании периваскулярного склероза, что приводит к ишемии эндометрия, усилению неоангиогенеза с формированием сосудов капиллярного и синусоидного типа.

В условиях воспаления циклическая регенерация эндометрия приобретает патологический характер и не обеспечивает основную функцию – создание условий для адгезии, имплантации и дальнейшего развития бластоцисты. [125, 139,181].

Хроническое воспаление в эндометрии с присущими ему патогенетическими механизмами развития и течения характеризуется нарушением его рецептивности, которое приводит к нарушению его циклического развития и препятствует имплантации бластоцисты. Г. Т. Сухих (2011) определяет рецептивность эндометрия как комплекс структурно-функциональных характеристик эндометрия с четкими временными и пространственными константами, определяющий способность эндометрия к имплантации. Резкое нарушение межклеточных взаимодействий, повреждение экстрацеллюлярного матрикса, преобладание незрелого коллагена III типа, усиление апоптоза клеток в поверхностных слоях эндометрия, склероз стромы вокруг сосудов, нарушение ангиоархитектоники ткани, дисфункция стероидных рецепторов, высокие уровни провоспалительных цитокинов, ишемия ткани, развивающиеся при ХЭ – все это приводит к снижению рецептивности эндометрия при которой имплантация и плацентация невозможны.

Длительное течение ХЭ способствует развитию ГЭ.

В пользу значительной роли ХЭ в развитии ГЭ свидетельствуют подавляющее большинство отечественных и зарубежных исследователей [11,57, 111, 113, 135].

Основанием для подобного мнения являются клинико-анамнестические характеристики- высокая доля перенесенных половых инфекций, многократные внутриматочные вмешательства, главным из которых является выскабливание эндометрия. Важнейшим критерием является выскабливание в раннем послеродовом периоде и при неразвивающейся беременности, а также прямое определение микроорганизмов в эндометрии (до 60% больных с ГЭ и ХЭ являются носителями микст инфекции бактериально-вирусного происхождения). При этом у женщин с ГЭ в эндометрии преимущественно в базальных отделах обнаруживаются признаки хронического воспаления. [44,147,164].

Многие исследователи отмечают изменения в иммунном статусе при хроническом воспалении в матке на локальном и системном уровне – изменение показателей гуморального и клеточного иммунитета с формированием вторичного иммунодефицитного состояния. (угнетение  $\alpha$  и  $\gamma$ ) [71].

Такое состояние неизбежно приводит к ослаблению цепи реакций, активируемых интерфероном (противовирусных, антипролиферативных, антибактериальных, иммуномодулирующих) Из всех названных эффектов применительно к ГЭ наиболее важен антипролиферативный, который реализуется прежде всего в регенерирующих тканях. Таковыми, по данным некоторых авторов, являются нормальный эндометрий в I фазе цикла и гиперплазированный эндометрий [113].

При хроническом эндометрите повышена не только пролиферация клеток, но и апоптоз, при этом баланс между этими процессами поддерживает тканевой гомеостаз, сдерживая баланс между ними. В механизмах апоптоза

большую роль играют TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ , продуцируемые макрофагами. При нарушении баланса между сдерживающими друг друга процессами, развиваются процессы гиперплазии или атрофии. [107, 108].

Таким образом, хронический эндометрит более часто в конечном итоге может и приводит к возникновению гиперплазии эндометрия за счет снижения активности антипролиферативного механизма.

Усиленный при ХЭ процесс неоангиогенеза и апоптоза по данным Сухих Г. Т. (2011) не приводит к тромбозам, что по-видимому, связано с локальным действием гепарин-связывающих факторов и экспрессией CD 138, являющимся рецептором для гепарин-связывающих факторов роста.

Нарушение локального иммунитета, выявляемые при ГЭ, свидетельствуют о наличии воспалительного процесса в эндометрии, т. к. имеют схожие признаки с хроническим эндометритом. [103,113, 139].

Многие авторы поддерживают определенную роль вирусной инфекции (ВПГ, ВПЧ), которая приводит к выраженной стимуляции пролиферативной активности клеток эндометрия. [92,103, 113].

Клиническим подтверждением является увеличение соотношения PR/ER и восстановление нормального соотношения процессов пролиферация/апоптоз при применении иммунных препаратов (интерферонов, амиксина и др.). При этом, несмотря на клиническую ремиссию патологического процесса, зачастую выявляется активация хронического воспаления, что проявляется повышением в крови и перитонеальной жидкости  $\alpha$ -ФНО,  $\gamma$ -интерферона, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижением ИЛ-4 [113]. Подобные изменения в иммунном статусе крови при хроническом воспалительном процессе любой локализации. [181].

Таким образом, в развитии ГЭ играет важную роль совокупность факторов – хроническое воспаление, измененная рецепция и метаболизм, нарушение соотношения эстрогенов и прогестерона. Общим фоном, способствующим ГЭ является ожирение и инсулинорезистентность, влияющие на содержание противовоспалительных цитокинов ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 в плазме крови. ФНО является медиатором специфического и неспецифического ответа организма на патологические агенты и осуществляет важную связь между воспалительными и иммунными реакциями. Метаболический синдром имеет прямое отношение к системной хронической воспалительной реакции организма [43,84, 152, 168].

### **1. 3 Классификация, морфология и молекулярно-биологические особенности гиперплазии эндометрия**

Согласно определению ВОЗ (1994), ГЭ представляет собой спектр морфологических изменений в эндометрии, варьирующих от доброкачественных, гормонально обусловленных, до предраковых состояний, в основе которых лежит моноклональная пролиферация генетически измененных клеток желез, и подразделяется на 4 морфологических варианта: простую ГЭ без и атипией и комплексную без и с атипией. [13, 32, 111, 163, 177]

Большинство патоморфологов рассматривает различные варианты ГЭ как морфологически гетерогенную группу прогрессивно нарастающих изменений гисто- и цитоархитектоники слизистой оболочки матки, т. е. подразумевают этапность течения гиперпластического процесса в эндометрии с возможным последующим озлакоачествлением. [87, 98,150]. Результатом этапных морфологических изменений эндометрия с появлением и нарастанием клеточной атипии является развитие дифференцированной аденокарциномы эндометрия (АКЭ) –гормонально зависимого рака [134].

Основным дифференциально-диагностическим признаком различных гистологических вариантов ГЭ, согласно классификации ВОЗ, является наличие или отсутствие клеточной атипии: полиморфизма клеток и ядер, увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения, увеличения количества ДНК, гиперхроматоз ядер, появление неправильных митозов. [116].

Многие авторы отмечают прогрессирующие изменения соотношения эпителиального и стромального компонентов от 1:2 в нормальной эндометрии до 4:1 в высокодифференцированной АКЭ. [169]

По данным некоторых авторов строма участвует в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки и функционирования эпителия через продукты специфической секреции: факторы роста, коллаген, эластин, протеогликаны, гликопротеины и др. Строма может оказывать влияние на функцию паренхиматозного компонента через определение характера и локализации кровеносных сосудов, обеспечивающих доставку эндокринных сигналов, клеток гематогенного происхождения. [86, 119, 184].

Отечественный ученый Н. И. Кондриков (1991) так характеризовал простую, и комплексную ГЭ без и с атипией.

Простая ГЭ отличается избыточной сбалансированной пролиферацией эпителиального и стромального компонентов в ответ на эстрогенную стимуляцию. Признаки клеточной атипии отсутствуют [98, 116].

Комплексная ГЭ характеризуется признаками нарушения гистоархитектоники, выражающиеся в увеличении доли эпителиального компонента, появлении ветвления желез [98, 116, 208].

ГЭ с атипией проявляет признаки клеточной атипии эпителия, при этом её простой вариант встречается крайне редко. [98, 116, 213].

Комплексная ГЭ с атипией характеризуется прогрессирующим увеличением эпителиально-стромального соотношения и признаков клеточной атипии, которая в большинстве случаев носит очаговый характер. [98].

Данные последних лет свидетельствуют о прогрессирующих генетических, биохимических, антигенных и функциональных изменениях в гиперплазированной эндометрии по мере ухудшения морфологической картины. [98,127,107].

Таким образом, выделение простой и сложной гиперплазии основывается на степени изменения архитектоники тканей: изменения соотношения эпителиального и стромального компонентов, а истинным предраком эндометрия, согласно классификации ВОЗ (1994), следует считать ГЭ с атипией. Однако ряд отечественных и зарубежных исследователей относят к факторам риска АКЭ все возможные варианты ГЭ, а также атрофию эндометрия [301]. При этом риск малигнизации варьирует от 1% при простой ГЭ без атипии до 29% при комплексной гиперплазии эндометрия с атипией. [61].

Развитию ГЭ по данным многих исследований способствуют изменение рецептивности и микроциркуляции в эндометрии. Так, для простой ГЭ без атипии характерна гипертрофия эпителиальных клеток и усиленный неангиогенез (повышенная экспрессия EGF, EGFR, при экспрессии VEGF менее 1 балла) и измененный рецепторный профиль ткани с преобладанием экспрессии PR над ER в эпителиальных и стромальных клетках по сравнению с нормальным эндометрием фазы пролиферации. [59,98].

Комплексная ГЭ характеризуется высоким очаговым уровнем пролиферации и апоптоза в условиях абсолютного преобладания первой по сравнению с нормального эндометрия I фазы менструального цикла; прогрессирующим нарастанием эпителиально-стромального соотношения,

которое происходит как за счет гиперплазии эпителия, так и за счет снижения стромаобразования на фоне увеличения соотношения ER/PR в клетках желез и его снижения в клетках стромы. Уменьшение доли стромы (содержащей сосуды) в условиях интенсивной пролиферации при комплексной ГЭ приводит к развитию гипоксии (ишемии) эндометрия, стимулирующей включению качественно новых механизмов неоангиогенеза с эндометрии (появление и нарастание экспрессии VEGF от КГБА к АКЭ). [83 98 189 190]. Развитие гипоксии/ишемии в условиях интенсивной пролиферации подтверждается исследованиями В.А. Бурлева, который выявил повышение экспрессии гипоксия-индуцибельного фактора по мере нарастания тканей и клеточной атипии. [149].

Благодаря развитию бимолекулярных технологий из морфологической группы гиперплазий эндометрия была выделена отдельная нозологическая единица –эндометриальная интраэпителиальная неоплазия (EIN) –сочетание молекулярно-генетических и морфологических изменений клеток эндометрия с высоким риском малигнизации. EIN является результатом моноклональной пролиферации генетически измененных клеток эндометрия.

Морфологически для EIN характерен очаг с величиной фокуса не менее 1 мм в диаметре. В пределах зоны EIN строма составляет менее 45% от общей площади измененной ткани. [207].

Вторым морфологическим признаком EIN является атипия неопластических желез. Диагноз EIN ставится только при наличии обоих признаков – уменьшении стромы менее чем на 45% и атипии эпителия [207].

Большинство исследователей рассматривают возникновение ГЭ как результат усиленной пролиферации эпителиальных клеток. Ранее главной причиной этому считали дисбаланс половых стероидов как в плазме крови, так и в эндометрии, выражающийся в относительной или абсолютной гиперэстрогении и гипопрогестеронемии. [14,101, 159, 171].

Молекулярным субстратом чувствительности к гормону служат специфические рецепторы, которые могут находиться в активном и неактивном состоянии [9, 60]. Н. М. Побединский и соавт. (2000) отметили значительные колебания концентрации ER и PR в гиперплазированном эндометрии и предложили ориентироваться на показатель соотношения концентрации рецепторов, который влияет на морфологическое отражение действия половых гормонов.

Соотношения ER/PR играют важную роль в создании нормальных условий для имплантации оплодотворенной яйцеклетки. Очевидно, что нарушение рецепторного аппарата и рецептивности эндометрия не только обеспечивают развитие ГЭ, но и препятствуют наступлению беременности. [108, 138, 213].

В механизмах, обеспечивающих подготовку эндометрия к имплантации (пролиферацию и секрецию), равно как и в развитии ГЭ участвуют факторы роста и их рецепторы (EGF, VEGF). Помимо пролиферативного действия на эпителий EGF и его рецептор, как и VEGF, играют важную роль в контроле ангиогенеза. Они экспрессируются преимущественно периваскулярно, определяя развитие субэпителиального капиллярного сплетения в раннюю лютеиновую фазу.

Важным регулятором развития клеточного цикла является трансформирующий фактор роста  $\beta$  (ТФР- $\beta$ ), который может индуцировать выраженный рост-ингибирующий эффект в одних клетках и стимулировать пролиферацию в других. ТФР- $\beta$  индуцирует апоптоз клеток стромы эндометрия. Помимо регуляции клеточного цикла ТФР- $\beta$  может опосредованно, через периваскулярные клетки, стимулировать ангиогенез в эндометрии. [53,182].

Факторами, индуцирующими апоптоз, являются облучение, гипоксия, вирусная инфекция, удаление ростовых факторов. [59,188].

Инициированный гипоксией апоптоз редуцирован в клетках с функционально неактивным P<sub>53</sub>, а, следовательно, гипоксия является фактором отбора клеток, лишенных P<sub>53</sub> [183]. Одновременно гипоксия стимулирует неоангиогенез с последующей реоксигенацией ишемизированных тканей [53,188, 206].

Таким образом следует подчеркнуть, что гипоксия играет важную роль в механизмах регуляции структурно-функциональных взаимоотношений в эндометрии на разных уровнях организации – от молекулярных до тканевых и органных.

Помимо факторов пролиферации, неоангиогенеза и апоптоза, важнейшее значение для изменения гистоархитектоники ткани, характерной для гиперпластических и неопластических процессов, имеют факторы адгезии, инвазии и деструкции/ ремоделирования межклеточного матрикса [119, 204].

Экстрацеллюлярный матрикс влияет на пролиферацию, дифференцировку, адгезию клеток, играет ключевую роль в регенерации, опухолевой инвазии и хоминге метастатических клеток. [77].

Значительное влияние на функцию межклеточного матрикса оказывают матриксные металлопротеиназы (MMPs), их активаторы и ингибиторы (TIMPs). Установлены более 25 типов MMP, обладающих специфичностью в отношении субстратов. Источником MMP являются многие клетки, в том числе опухолевые [185].

Таким образом, анализ исследованной литературы показал, что гиперплазия эндометрия – сложный морфофункциональный процесс, в реализации которого принимают участие многочисленные молекулярно-биологические, генетические, биохимические, иммунные и другие факторы, а также различные биологические структуры – субклеточные, клеточные,

тканевые и органные. Расстройство физиологической системной и локальной регуляции приводит к нарушению функционального равновесия в системе и преобладанию процессов пролиферации над апоптозом. Выраженное усиление деления клеток сопровождается усиленным неоангиогенезом в патологическом субстрате с измененной рецепцией эстрогенов и прогестерона.

Накоплены достаточные научные данные о содержании различных бимолекулярных маркеров, ответственных за пролиферацию, апоптоз, неоангиогенез, контактное торможение, ремоделирование межклеточного матрикса при доброкачественных, пограничных и злокачественных патологических состояниях матки в нормальных, фенотипически измененных клетках и сыворотке крови.

Нарушение многочисленных механизмов нормального функционирования эндометрия, способствующие возникновению и развитию гиперплазии эндометрия неизменно приводят к отсутствию условий для имплантации бластоцисты и наступлению беременности.

#### **1. 4 Клиническая картина, современные методы диагностики и лечения гиперплазии эндометрия и хронического эндометрита**

Ведущим в клиническом проявлении гиперплазии эндометрия являются аномальные маточные кровотечения, которые нередко приводят к железодефицитной анемии [47,85, 144, 166]. Однако у многих женщин ГЭ обнаруживается случайно при УЗ исследовании либо при профилактическом исследовании, либо целенаправленном обследовании, например, при подготовке к ЭКО и ПЭ. Других проявлений ГЭ по данным литературы мы не обнаружили.

Ведущая роль в диагностике и верификации диагноза ГЭ принадлежит морфологическим методам исследования. «Золотым стандартом» алгоритма

обследования является гистероскопия, отдельное диагностическое выскабливание и патоморфологическое исследование.

В качестве первичной диагностики широко применяются ультразвуковые методы –ультрасонография, цветное доплеровское картирование. [4, 40,65,98,120, 164].

По данным разных авторов диагностическая ценность УЗИ по отношению к ГЭ составляет около 75%. По мнению В. М. Пашкова (2004) информативность трансвагинальной эхографии достигает 95% [63, 65,120].

Гистероскопия является объективным методом исследования, позволяющим визуально оценить локализацию, распространенность, вид гиперплазии эндометрия. Однако этого недостаточно для определения в дальнейшем тактики лечения – выбора характера, метода, продолжительности лечения. Ложноположительные результаты в репродуктивном возрасте встречаются у 42% пациенток [65, 110, 130]. Для окончательного диагноза необходима патоморфологическая оценка тканей. Как правило, для получения образцов ткани используется выскабливание эндометрия и эндоцервикса, носящее одновременно лечебный характер- удаление патологически измененного эндометрия. Однако у женщин, готовящихся к ВРТ, эта манипуляция может активировать уже имеющийся, как правило, хронический эндометрит и способствовать «неудачному» ПЭ. [107,108]. С другой стороны, при выполнении прицельной биопсии в биоптат может не попасть патологически измененный фрагмент эндометрия в силу чрезвычайно малых размеров образца [98,213]

Многочисленные исследования свидетельствуют о необходимости дополнительного использования молекулярных методов исследования с целью верификации морфологического диагноза, определения индивидуального подхода к лечению, прогнозирования течения и

прогрессирования заболевания. В современной медицине это-персонифицированный подход. [98,164]

Некоторые авторы считают целесообразным определять рецепторы к стероидным гормонам PR и E<sub>2</sub> с целью выбора варианта гормональной терапии. [68, 128, 130]

Современный подход к лечению ГЭ основан на комплексе мероприятий, включающих удаление патологически измененного эндометрия, гормональной терапии и коррекции метаболических нарушений. [71, 87, 92, 95, 98,118]. Целью гормональной терапии является временная стимуляция железистой регрессии в эндометрии. В последствие – восстановление овуляторного менструального цикла. [29, 126, 130].

Некоторые авторы считают, что морфологическим критерием эффективности гормонального лечения является достижение атрофии эндометрия. [91, 115]. Однако для женщин, желающих иметь ребенка и готовящихся к ЭКО, этот вариант не приемлем. Для лечения ГЭ применяются несколько групп препаратов. Это прогестагены (Визанна), стероидные анти-андрогены (Диане-35), Анти-гонадотропины (Даназол) и аналоги гонадотопин-релизинг гормона [95, 130].

Выбор варианта лечения определяется, типа и режима терапии (циклический, непрерывный) определяется возрастом, морфологической формой женщины, клиническим проявлением, характером течения (рецидивирующий), наличием сопутствующих гинекологических заболеваний (миома матки, эндометриоз). [130]. В репродуктивном возрасте предпочтительным является циклический режим. [98]

Некоторые авторы считают необходимым проведение противовоспалительной, противовирусной, иммунной терапии в комплексном

лечения ГЭ в связи с высокой частотой воспалительных заболеваний в анамнезе или сопутствующим ХЭ.

Продолжительность гормональной терапии обычно составляет 3-9 месяцев, после чего рекомендуется РДВ. [131, 209]. Однако для женщин, вступающих в программу ЭКО, это носит отрицательный характер.

При неэффективности гормональной терапии следующим этапом лечения является хирургический – абляция эндометрия (электрохирургическая, лазерная) или гистерэктомия. Совершенно очевидно, что для женщин, планирующих беременность, эта методика неприемлема. [26]

Вместе с тем, большинство авторов считают, что при наличии противопоказаний к гормональной терапии, рецидивирующем характере течения особенно атипичской ГЭ целесообразно прибегать к радикальному хирургическому лечению [93,98 111,178].

Некоторые исследователи свидетельствуют, что в основе атипичской гиперплазии эндометрия лежат генетические механизмы повреждения регуляции пролиферации, апоптоза, неоангиогенеза. Эти изменения необратимы, поэтому при атипичской ГЭ обязательно надо прибегать к гистерэктомии. Другие считают эту точку зрения ошибочной. [71], Так или иначе, подобная тактика не может быть использована у женщин, желающих реализовать репродуктивную функцию. [26]

Клиническая картина ХЭ отражает глубину структурно-функциональных изменений в тканях и зависит от этиологического фактора, степени травматического повреждения, сопутствующей патологии матки, проведенного ранее лечения и его успеха. [26]

Преобладающими (у 90% пациенток) симптомами являются аномальные маточные кровотечения разной интенсивности циклического и ациклического характера, «мажущие» перименструальные кровянистые выделения, нередко

– болевой синдром, дисменорея и диспареуния. По данным А. В. Шуршалиной (2011) ХЭ выявляется у 72% женщин, предъявляющих жалобы на боли внизу живота, а перименструальные кровянистые выделения – у 90% пациенток. При этом бесплодие было у 65, 2%, а невынашивание беременности – у 47, 4% женщин.

В последние годы в литературе активно обсуждается роль патологии эндометрия в бесплодии и неуспешных результатах программ ВРТ. По данным разных авторов частота ХЭ у женщин с бесплодием составляет 12-60%, а у женщин с неудачными попытками ЭКО и ПЭ превышает 60%. А. Fernandez Valdez (1982) показал, что при наличии внутриматочной патологии частота бесплодия увеличивается в 4 раза независимо от других факторов бесплодия. По данным Г. Т. Сухих (2011) показатели частоты ХЭ у больных с бесплодием беременности выявлены у 78, 1% пациенток.

Несмотря на очевидность и понятность клинических проявлений ХЭ диагностика ХЭ является проблемной. Это связано с отсутствием ярких клинических проявлений, с одной стороны, и не совсем адекватной последовательностью диагностических действий, с другой. На современном этапе проблемы диагностики остаются актуальными и требуют совершенствования с учетом современных достижений и возможностей.

Важнейшим является детальный анализ анамнеза заболевания – перенесенные инфекции, выскабливания и их последствия, осложненные беременности и роды.

Скрининговым методом является ультразвуковое исследование. Наиболее частыми признаками ХЭ являются изменение структуры эндометрия – появление в зоне срединного М-эха участков повышенной эхогенности различной величины и формы. В базальном слое часто визуализируются гиперэхогенные образования, являющиеся отражением фиброза и кальциноза. Возможно некоторое расширение полости матки до 3-

4 мм за счет жидкостного содержимого. Значительно реже, но патогномичным признаком является асимметрия толщины передней и задней стенки эндометрия, асимметрия толщины и истончение М-ха. [15,110]. Чувствительность эхографических признаков при диагностике ХЭ составляет от 40% до 88%, специфичность до 90%. По данным некоторых авторов [84] использование 3D или 4D эхографии позволяет более точно оценить объем эндометрия и кровотоков в мелких артериях, что имеет важное значение для прогноза ПЭ в программах ВРТ.

В последнее время при сочетанной патологии нередко стали прибегать к МРТ. По данным Тернового С. К. (2012) чувствительность метода составляет 94%.

Значительно более информативным и объективным методом является гистероскопия. По мнению большинства авторов, гистероскопия позволяет установить диагноз ХЭ в 93% случаев [84]

В последние годы для диагностики ХЭ вообще и у женщин с бесплодием используется так называемая офисная гистероскопия, не требующая госпитализации и обезболивания. Гистероскопы, с диаметром тубуса до 2 мм не требуют расширения цервикального канала и позволяют проводить гистероскопию без использования зеркал и пулевых щипцов. Значительно повышает точность диагностики прицельная биопсия и патоморфологическое исследование. Особенно важно это для женщин с бесплодием, участвующих в программах ВРТ, т. к. выскабливание для них является категорически вредным [79].

Комплексное микробиологическое обследование должно быть неотъемлемой частью диагностики ХЭ. Важно учитывать, что микробная флора цервикального канала не всегда соответствует флоре в эндометрии, поэтому для объективизации обсемененности эндометрия целесообразно проводить культуральное исследование биоптата. [85]. По данным Сухих Г. Т.

и соавторов (2011) более чем в 60% случаев инфицирование эндометрия отмечено на фоне вагинальных инфекций, что позволяет предполагать возможность восходящей инфекции и подчеркивает значение выявления нарушений микроценоза влагалища, как предвестников развития ХЭ. При этом частота выявления инфицированного эндометрия составила 40%, а микробная флора была представлена микроаэрофильным, облигатно-анаэробным и факультативно-анаэробным представительством.

Окончательным этапом диагностики является морфологическое исследование эндометрия. Традиционным в нашей стране методом получения материала является его выскабливание. В некоторых учреждениях чаще используется прицельная биопсия. В последнее время показана высокая диагностическая ценность аспирационной биопсии с помощью аспирационной кюретки Pipelle de Cornier [3, 7, 15, 79]. Однако, следует заметить, что такая биопсия имеет и недостаток с точки зрения возможности получения неполноценного соскоба. [8, 9]. По данным Сухих Г. Т. использование пайпель-биопсии было репрезентативно для морфологической верификации ХЭ в 93% случаев диагностики. При этом специфичность метода составила 100%. Морфологическими критериями ХЭ являются: воспалительные инфильтраты, состоящие из лимфоидных элементов, располагающихся очагово или диффузно, наличие в строме плазматических клеток, очаговый фиброз стромы, склеротические изменения стенок спиральных артерий эндометрия. Для исключения возможных изменений в ткани эндометрия, носящий физиологический характер накануне менструации, забор материала целесообразно производить на 7-10 день менструального цикла.

Для уточнения диагноза ХЭ осуществляется иммуногистохимическое исследование (ИГХ). Частота определения плазматических клеток в эндометрии с помощью ИГХ в 1,6 больше, чем при световой микроскопии. Сухих Г. Т. и соавт. (2011) подчеркивают, что определение плазматических

клеток с помощью маркера CD 138 позволяет их определить в 100% случаев, а световая микроскопия – лишь в 68%. ИГХ с маркером CD 138 необходимо выполнять при всех сомнительных и спорных случаях. Авторы установили, что у пациенток с ХЭ имеется значительный клеточный и медиаторный дисбаланс. При иммунофенотипировании клеток эндометрия при ХЭ показано достоверное увеличение количества моноцитов/макрофагов (CD 14+) и больших гранулярных лимфоцитов (CD 56+), а также незначительное повышение общего числа Т-лимфоцитов (CD-3+) по сравнению с нормальным эндометрием. Кроме того, было выявлено, что число макрофагов в эндометрии (CD 68) при ХЭ в 2 раза превышало аналогичные показатели в нормальном эндометрии. А уровни экспрессии в макрофагах важнейших регуляторов воспаления факторов роста TNF- $\alpha$  и TNF- $\beta$  были повышены более чем в 4 раза. [49, 108,109].

Важным является анализ процессов пролиферации, апоптоза, ангиогенеза и склерозирования. Показано повышение митотической активности клеток эпителия желез и стромы эндометрия. Доказательством явилось повышение экспрессии в клетках в 4, 4 раза маркера Ki -67 и эпидермального фактора роста EGF – в 2 раза.

Для оценки функционального состояния эндометрия проводится ИГХ – реакция с антителами к стероидным рецепторам – эстрогеновым (тип  $\alpha$ ) и прогестероновым (тип А и В). Соотношение рецепторов E/PR (в норме 2) отражает функциональную состоятельность эндометрия.

При ХЭ может наблюдаться очаговая гиперплазия базального слоя эндометрия, кровоизлияния, мелкоочаговые отложения гемосидерина в строме эндометрия, Слизистая оболочка может иметь неравномерную толщину, местами с выраженной деформацией желез и неравномерным их распределением. [107]

При ХЭ отмечаются значительные нарушения ангиоархитектоники ткани и интенсивные процессы склерозирования с накоплением интерстициальных коллагенов, включая периваскулярную ткань вокруг спиральных артерий и в базальных слоях эндометрия. По данным Сухих Г. Т. (2011) экспрессия проангиогенного фактора роста VEGF у женщин с ХЭ была повышена в 9,5 раз, содержание интерстициального коллагена – в 2, 7 раза, увеличение плотности новообразованных сосудов и содержания коллагена базальных мембран IV типа – в 5, 7 раза. Полученные данные свидетельствовали о выраженном клеточном и медиаторном дисбалансе в эндометрии на фоне воспаления, что приводит к нарушению рецептивности и причиной нарушения имплантации и плацентации.

Таким образом, методы диагностики ГЭ и ХЭ многочисленны, весьма трудоемки, длительны в исполнении и не отражают клинимоρφологической картины в реальном масштабе времени. Поэтому разработка методов экспресс-диагностики «по месту» является крайне актуальной.

Лечение хронического эндометрита представляет известные трудности. Это обусловлено рядом факторов. Во-первых, заболевание носит персистирующий характер при отсутствии специфических клинических проявлений. Во-вторых, в конечном итоге результатов всегда является морфологическое повреждение ткани с функциональными расстройствами различной степени тяжести. Сложным является определение микробного фактора и верификация вирусного повреждения слизистой оболочки.

Существуют несколько точек зрения на принцип лечения ХЭ. Одни авторы не придают значимости микробному фактору и основой лечения считают физиотерапию. Другие применение антибиотиков считают основополагающим. Ряд авторов занимают срединную позицию и считают, что антибактериальная терапия при ХЭ должна быть этиотропной и основываться строго на результатах микробиологического исследования.

Большинство авторов считают, что лечение ХЭ должно быть комплексным и направленным на восстановление структуры и функции эндометрия. Это антибактериальная терапия, физические факторы, метаболическая терапия, гормонотерапия, гинекологический массаж и др. Критериями эффективности лечения являются купирование клинических проявлений, восстановление эхо-графической картины, элиминация из полости матки патогенной микробной флоры, восстановление в эндометрии уровней иммунокомпетентных клеток, восстановление кровоснабжения и микроциркуляции, снижение интенсивности склерозирования и восстановление фертильности. [108].

Несмотря на многообразие лечебных факторов, применяющихся в настоящее время, эффективность терапии ХЭ остается крайне низкой.

Частота наступления беременности у женщин с ХЭ не превышает 40%, в том числе в программах ЭКО 25-30%, а донашивания беременности 35% [108,111]. Поэтому поиск новых методов лечения ХЭ является крайне актуальным.

### **1. 5 Лазерная конверсионная диагностика и фото-ингибирующая терапия**

Доклиническая диагностика гиперпластических процессов эндометрия и углубленная диагностика хронического эндометрита у женщин с бесплодием является до сих пор актуальной проблемой. Многочисленные современные технологии – КТ, МРТ – дают широкие представления о патологическом процессе, однако не всегда отражают патогенетические и патофизиологические механизмы развития и его состояние как непосредственно в момент исследования, так и в динамике процесса реабилитации (диагностика по месту-требование ВОЗ) [Меньшиков и др.]

В условиях научно-технической революции, преобразующей все

области техники и естествознания, развитие технической оснащенности здравоохранения и технической базы медицинской науки и практики тесно связано с эффективным и своевременным использованием современных достижений физики, которая все глубже проникает в биологию и медицину, обогащает их принципиально новыми методами и средствами исследований, обработки диагностической информации и эффективного воздействия на отдельные физиологические системы и на весь организм в целом. Это прежде всего относится к применению лазерного излучения, лазерной медицинской техники и медицинским технологиям на их основе. [8, 15]

Широкий диапазон местного и общего, неспецифического и специфического действия лазерного излучения определяется общебиологической закономерностью, которую можно сформулировать следующим образом: любой физический, химический, биологический фактор или их сочетание, действуя на биологический объект, в зависимости от параметров воздействующего фактора (доза, концентрация и т. д. ), уровня организации биологического объекта (молекулярный, субклеточный, тканевой, органной, организменный, экологический) и его функционального состояния (норма, патология, фаза цикла, беременность и др. ) может не оказывать никакого воздействия на его специфическую функцию, стимулировать её или угнетать, вплоть до разрушения. При этом для каждого из биологических объектов (клеток, тканей, органов) может быть установлена качественная и количественная зависимость параметров воздействующего фактора (для лазерного излучения - это спектральный диапазон, интенсивность, доза) от уровня организации и функционального состояния биологического объекта (норма, патология, патогенез заболевания, реактивность организма, подвергаемого воздействию лазерного облучения), что в итоге приводит к определенному результату (стимуляция, угнетение, разрушение, отсутствие эффекта и др. ). В целом представленный комплекс факторов определяет возможности и перспективы применения лазерного

излучения и лазерной медико-биологической техники как для диагностики, так и для профилактики и лечения заболеваний, в том числе и в гинекологии [8]. Такой методологический подход в современной литературе назван лазерной конверсионной диагностикой (ЛКД), а в сочетании с лазерной терапией [7, 8,110] он обеспечивает стимуляцию (или угнетение-при ФИТ) клеточной пролиферации, противовоспалительное действие, воздействие на реологические свойства крови- нормализация микроциркуляции (рост капилляров и восстановление нейрорецепторного аппарата), понижение проницаемости сосудов и, как следствие, противоотечное действие, стимуляция обменных процессов в тканях(метаболический эффект), повышение резистентности клеток к патогенным агентам, выраженный анальгетический эффект, стимуляция общих и местных специфических и не специфических факторов иммунной защиты (фагоцитоз), десенсибилизирующее действие, что в целом, способствует саногенетическому течению (реабилитации) патологического процесса [11, 132].

Таким образом лазерная конверсионная (Раман и/или флюоресцентная составляющая) диагностика (ЛКД), основанная на принципах квантовой физики, биологии и фотохимии, дает принципиально новые возможности в не инвазивной диагностике и мониторинге биохимических изменений в клетках и патофизиологических изменений в тканях. ЛКД позволяет отличать здоровые клетки и ткани от измененных, в том числе воспалительными и опухолевыми процессами [77, 96, 43]. Флюоресцентная диагностика (ФД) достаточно широко применяется в мире в различных отраслях медицины. В 1998 году в Швейцарии (Цюрих) состоялся I Всемирный конгресс по фотобиологическим методами диагностики и лечения. РАМН РФ рекомендовала расширить диапазон фундаментальных исследований ЛКД технологий и, на этой основе, обеспечить их широкое внедрение в клиническую практику [решение Президиума РАМН №10-7/31 от 01. 06. 06].

ЛКД, как диагностическая компонента (флюоресцентная составляющая) является современной и перспективной медицинской технологией, в основе которой лежит взаимодействие фотосенсибилизатора (ФС) и источника света определенной длины волны ( $\lambda$ ), соответствующая максимальному пику возбуждения фотосенсибилизатора. В основе ЛКД лежит спектральный анализ биологических тканей [8, 50, 107, 163]. Как правило, целью спектрального анализа, применительно к неопластическим и воспалительным процессам, является определение «скрытых» очагов патологии, определение границ и путей распространения, поиск пораженных метастазами инфекции и/или опухолевого процесса лимфоузлов. Кроме того, важным является определение скорости и уровня накопления ФС в тканях для оценки динамики течения патологического процесса и/или эффективности лечения и реабилитации больного в целом. [29, 30]. В ряде случаев определяющим для выбора тактики лечения является оценка преобладающего типа метаболизма в обследуемых тканях (аэробный/анаэробный) и степени оксигенации крови, микроциркуляции тканей [10 129]. Принципиальным достоинством ЛКД (и ФИТ на её основе) является её неинвазивность и возможность практически в реальном времени на принципе обратной связи адекватно анализировать характер патологического процесса непосредственно в исследуемых тканях в момент обследования и, как следствие, своевременно принимать решения по выбору предпочтительного метода лечения пациенток и их лекарственной поддержки [8].

В основе и развитии ЛКД и ФИТ на её основе лежат физико-химические процессы. Молекула ФС при поглощении света определенной длины волны переходит из основного состояния в возбужденное и/или синглетное состояние, существующее очень короткий промежуток времени. Далее происходит или обратный переход в прежнее состояние с выделением энергии и последующей люминесценции (флюоресцентная составляющая) облучаемого объекта. Возможен переход кислорода в тканях в синглетную

форму с последующими реакциями (в присутствии фотосенсибилизатора-ФС), которыми являются кислород-зависимые фотодинамические процессы (ФИТ). При этом конечным процессом является разрушение клеточных структур под действием активных форм кислорода и свободных радикалов [11,15, 134]. Наряду с этим ФС в свою очередь подвергается атаке со стороны свободных радикалов, отличающихся цитотоксичностью. В случае пролонгирования фото-деструктивного процесса происходит уменьшение концентрации ФС под действием света и уменьшение интенсивности флюоресценции. В результате происходит накопление токсичных продуктов распада ФС [170]. Это явление называется photobleaching (обесцвечивание).

В измененных патологическими процессами тканях основными компонентами, поглощающими свет, являются гемоглобин (Hb), вода, липиды и меланин. ФС также участвует в процессе свето-поглощения тканей. Наиболее отчетливый диапазон для проникновения света в биологические ткани являются 650-1000 нм, что соответствует красному и ближнему инфракрасному диапазону спектра [8, 123, 146].

Кванты с меньшей  $\lambda$  поглощаются Hb крови и меланином, с большей  $\lambda$  – водой. Чем больше длина волны возбуждения ФС, вызывающая флюоресценцию, тем больше глубина проникновения света, и, следовательно, глубина «оптической» интроскопии и адекватная ей «оптическая биопсия» тканей. [102].

Различают аутофлюоресценцию (эндогенную) или собственную флюоресценцию, которая зависит от содержания флюорофоров (веществ, способных флюоресцировать), и экзогенную, обусловленную введением внешних ФС, способных избирательно накапливаться в клетках с повышенной пролиферативной активностью и особенно при преобладании анаэробного типа метаболизма. Этот феномен послужил основой для диагностики пограничных и раковых процессов с использованием фотосенсибилизаторов

(фотосенс, фотодитазин, 5-аминоливуленовая кислота (5-АЛК) и др.) а также фотодинамической терапии воспалительных и опухолевых заболеваний [108]. Большинство из них вводятся в организм парентерально (внутривенно). Это существенно ограничивает поведение пациентов (они должны пребывать в полутемном помещении от нескольких суток, до нескольких месяцев, особенно в летнее солнечное время суток). Это нередко сопровождается выраженными токсическими и аллергическими реакциями [8, 31,148,151, 201,].

### **1. 6 Применение аутофлюоресценции в клинической медицине и гинекологии**

Впервые явление флюоресценции описал G. G. Stokes в 1854 году. [103, 117]. Эндогенную флюоресценцию описал А. Policard (1924), который в эксперименте обнаружил флюоресценцию в красном диапазоне спектра при облучении опухоли светом ближнего ультрафиолетового диапазона. Позже было установлено, что ткани с повышенной пролиферативной активностью (неоплазия, эмбриональные ткани, регенеративная) обладают повышенной способностью накапливать порфирины [59].

R. M. Lecette (1965) предложил использовать флюоресцентную спектроскопию для дифференцировки здоровых тканей от опухолевых. Так, при облучении нормальных здоровых тканей и злокачественных опухолей молочных и щитовидных желез, а также рака желудка излучением с  $\lambda$  330 нм выявило флюоресценцию всех тканей в области 360-600 нм. При этом интенсивность флюоресценции тканей злокачественных опухолей была меньше, чем здоровых.

Фундаментальные исследования в области флюоресцентной спектроскопии в последующем как в эксперименте, так и в клинической практике были выполнены W. Lohman, P. R. Alfano, Y. Yang. Александровым М. Т [8, 31]

Фундаментальные и основополагающие исследования в области создания современных оптических лазерных генераторов и обоснования их применения в науке и технике принадлежат отечественным ученым-лауреатам Нобелевской премии в области физики Н. Г. Басову и А. М. Прохорову (1964). Последующая разработка и комплексное применение ЛИ и волоконной оптики, аппаратно-программных комплексов (АПК) существенно расширило возможности лазерной конверсионной диагностики [8]. Высокие чувствительность и специфичность (диагностическая и аналитическая, разрешающая способность современных АПК позволяют выполнять высокоточные диагностические исследования различных тканей, неинвазивно и экспрессно получать достоверную информацию о биологическом объекте в норме и при патологии [43, 65, 67, 152, 163]. Именно использование таких технологий в режиме экспресс-диагностики может существенно повлиять на разработку и совершенствование инновационных медицинских технологий и, как следствие, способствовать повышению эффективности профилактики, качества лечения, снижению заболеваемости онкологическими и воспалительными заболеваниями в масштабе страны. Однако, внедрение современных образцов этой медицинской техники и лечебно-диагностических медицинских технологий на их основе происходит крайне медленно (трудности в сертификации оборудования и её финансирования, проблемы с обучением специалистов, недостаточное финансирование клиник на приобретение инновационной техники и методик и др.).

Конкретизируя применение ЛКД и ФИТ технологий применительно к клинике акушерства и гинекологии следует отметить:

- 1) исследования в этой области все еще малочисленны, иногда противоречивы и, зачастую, не систематизированы,

- 2) отечественные и зарубежные исследования свидетельствуют о выраженных различиях оптических свойств и спектральных ЛКД

характеристик здоровых и патологически измененных тканей в разных органах, в том числе органов малого таза у женщин [154,159, 173, 185].

3) в гинекологической практике ЛКД –флюоресцентная составляющая, применялась, в основном, для прицельной диагностики дисплазии шейки матки [8, 106].

4) Установлено, что клинически наиболее информативным является возбуждение аутофлюоресценции тканей лазерным излучением 3-х длин волн 337 нм, 380 нм и 460 нм [165]. Показано, что ФС повышает точность (по локализации и распространению) диагностики цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) по сравнению с обычными цитологическими и кольпоскопическими методами.

5) Экзогенное введение фотосенсибилизаторов для диагностики и ФДТ терапии чревато осложнениями в виде аллергических реакций, отека Квинке, ограничении работоспособности пациентов на этапе их реабилитации. Единичные исследования по ФД рака эндометрия были выполнены в конце 90-х годов прошлого столетия. В этих работах использовалась индуцированная флюоресцентная спектроскопия с применением 5-АЛК. [65,145,163,196]. Были получены некоторые положительные и обнадеживающие результаты. [179,202].

В последнее время флюоресцентную диагностику часто называют «оптической» биопсией тканей. Это, по-видимому, связано с интеграцией ЛКД и проводимой под её контролем ФДТ с компьютерными программами, позволяющими в режиме экспресс-диагностики «on-line» и не инвазивно получать объективную и адекватную патологическому процессу информацию в течение 1-3 мин. В том числе информацию о сущности и характере патологического процесса в различных тканях и органах репродуктивной системы. Однако реальные исследования на этот счет единичны и проведены на аппаратуре с низкой аналитической чувствительностью (что, собственно и

вынуждает авторов исследований и клинических наблюдений для повышения чувствительности метода и спектральной визуализации тканей использовать небезопасные экзогенно вводимые фотосенсибилизаторы) [4, 7, 132, 133]. Именно поэтому реальное (без введения каких-либо маскирующих компонентов) изучение метаболических, морфометрических и функциональных характеристик тканей в норме и при патологии зачастую затруднены, а их результаты часто противоречивы и сложны для интерпретации. Это обусловлено возникающей разнородностью оптических свойств тканей, их изменением «ex vivo» накоплением продуктов распада и некроза, распадом Hb, накоплением продуктов ПОЛ и т. д. [8, 27].

Проводится изучение и обсуждение вопроса о глубине детекции («оптической биопсии») при лазерной диагностике, в том числе при аутофлюоресцентной диагностике. Показано, что глубина проникновения в ткани возбужденного лазерного излучения в ближнем УФ-диапазоне составляет порядка 0, 2 мм, при возбуждении в зеленой области – не более 1, 0 мм. Ограничение диагностических возможностей, по мнению некоторых исследователей, связано с наличием эритроцитов и распределением Hb крови в тканях, который активно поглощает свет в этом диапазоне длин волн. Возбуждение флюорофоров в красном и инфракрасном диапазоне (622-780 нм) имеет выраженное преимущество, т. к. мало зависит от качества поверхности и кровенаполнения объекта исследования. Глубина проникновения света с  $\lambda$  630 нм в ткани составляет 1-3 мм, с  $\lambda$  700-850 нм – 2-8 мм [164]. Некоторые авторы считают, что аутофлюоресценция тканей злокачественных опухолей в красной области спектра обусловлена, прежде всего, эндогенными порфиринами, содержание которых изменено при разных патологических процессах (гиперплазия, воспаление) [148 156 170].

В клиническом аспекте (по диагностике) в гинекологической практике известны исследования по флюоресцентной диагностике (ФД) и положительные результаты фотодинамической терапии при лечении

патологических процессов вульвы – дистрофии, лишае, раке. Однако все еще недостаточно изучены методами ФД патологические процессы органов малого таза, отсутствует их база данных, которую можно было бы использовать в качестве референсных показателей при оценке нормы и патологии, эффективности лечения и реабилитации пациенток по основным патогенетически обоснованным показателям тканей: метаболическим (аэробный/анаэробный тип метаболизма и оксигенация тканей), морфометрическим (активность клеточной пролиферации, структурированность тканей), функциональным (микроциркуляция, соответствие метаболических и морфометрических показателей менструальному циклу).

В литературе имеются единичные данные о ФД эндометриоза, миомы матки в эксперименте и клинической практике [63,141 160].

Клинические результаты: Лидс и соавт. (2000) опубликовали результаты применения 5-АЛК при ФДТ маточных кровотечений [48]. В результате интенсивность аномальных маточных кровотечений уменьшалась. Данные морфологического исследования показали признаки атрофии эндометрия с одновременной частичной регенерацией желез эндометрия. Данное исследование показало возможность выполнения фотодинамической терапии (ФДТ) с использованием 5-АЛК.

В доступной литературе возможности применения ЛКД, её флюоресцентной составляющей и ФДТ у женщин с бесплодием, гиперпластическими процессами эндометрия и хроническим эндометритом мы не обнаружили.

Фото-иммунная терапия предусматривает использование значительно меньших энергий для возбуждения фотосенсибилизатора в тканях. Разработка и применение методов ЛКД (флюоресцентной и/или рамановской составляющей), фото-ингибирующей и фото-иммунной терапии в различных

областях медицины, в том числе для сохранения и поддержания репродуктивного здоровья женщины, являются крайне актуальным. Отличительные достоинства этих технологий –не инвазивность, оперативность, высокая возможность их применения у женщин с гиперпластическими процессами эндометрия, а также с бесплодием и невынашиванием. Однако эти медицинские технологии в методическом и методологическом аспекте все еще недостаточно разработаны для женщин с бесплодием, гиперпластическими процессами эндометрия и хроническим эндометритом. В тоже время социально, клинически и, как следствие, стратегически важным является разработка и внедрение новейших органосберегающих технологий для лечения молодых женщин, преисполненных чувством материнства, страдающих заболеваниями органов репродукции и несостоятельных в беременности и родах.

Перспективные медицинские ЛКД и ФИТ-технологии, особенно при комплексном их использовании для диагностики и лечения гиперпластических процессов эндометрия и хронического эндометрита у женщин с бесплодием не применяли, что и послужило мотивацией для настоящего исследования в интересах науки и практики, врача и, главным образом, пациенток.

## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для достижения поставленной цели и решения задач исследование было разделено на 2 части – экспериментальную и клиническую. Экспериментальная часть, целью которой была разработка метода лазерной конверсионной диагностики гиперпластических процессов эндометрия и объемной фото-ингибирующей и фото-стимулирующей терапии, выполнялась на базе НИЦ Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (Зав.- Проф. Е.И. Эрнес). Клиническая часть исследования проводилась на базе клиники акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева и клиники репродуктивного здоровья Арт-эко (дир. д. м. н. Е. А. Калинина).


2. 1. Обоснование выбора аппаратуры, методов исследования и алгоритмов лечения.

**АППАРАТУРА.** Для исследований использовали аппаратно-программный комплекс Ин Спектр с оптоволоконным датчиком (файбер). Образцы аппаратуры, их предназначение и клиническое применение представлены на рисунках 1, 2, 3.

www.enspectr.com/ru


EnSpectr  
Enhanced Spectrometry

**ИнСпектр R532: КР-анализатор**

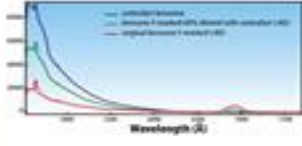


- ☐ Лазер 532 нм
- ☐ Время анализа менее 2 секунды

**ИнСпектр L405: Люминесцентный анализатор**




- ☐ Лазер 405 нм



**ИнСпектр**


- ✓ Безаналитическое определение в режиме реального времени
- ✓ Быстрые и надежные результаты
- ✓ Анализ ультрамалого количества веществ на основе SERS-технологий
- ✓ Высокая чувствительность и разрешающая способность

**РаПорт: ручной Раман Анализатор**



- ☐ Лазер 532 нм
- ☐ До 6 часов автономной работы
- ☐ Вес 2,3 кг
- ☐ Время анализа менее 2 секунды
- ☐ Передача данных по Bluetooth на планшет или ноутбук

**ИнСпектр Файбер**



- ☐ Анализ труднодоступных участков образцов
- ☐ In Vivo анализ в медицинских приложениях

**ИнСпектр**

- ✓ Компактность и портативность
- ✓ Не требует пробоподготовки
- ✓ Однокнопочный интерфейс
- ✓ Отсутствует необходимость в рентгеновском излучении

Рисунок 1. Образцы аппаратуры для лабораторных исследований и клинических наблюдений.

www.enspectr.com/ru

EnSpectr  
Enhanced Spectrometry

**Программное обеспечение ИнСпектр**

- ☐ Интуитивный графический интерфейс  
Однокнопочный режим работы
- ☐ Совместимость с форматами данных  
Импорт и экспорт данных в форматах TXT, EXL, ESP
- ☐ Автоматическая идентификация с использованием встроенных библиотек на >11'000 веществ
- ☐ Редактор собственных библиотек спектров

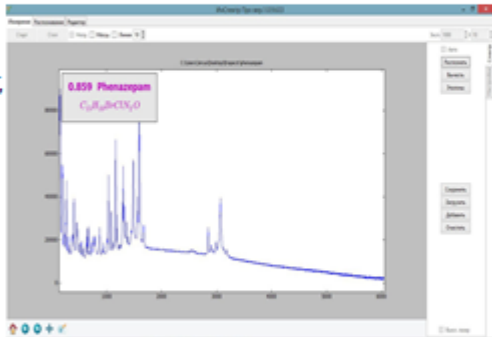


Рисунок 2. Программное обеспечение Ин Спектр.



Рисунок 3. Области медицинского применения АПК Ин Спектр.

## ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДИКИ

Исходя из представленной концепции, при экспериментально-теоретическом обосновании новой медицинской технологии, в качестве модельного объекта использовали культуру микробных тел (три вида- линейные штаммы стафилококка, стрептококка и устойчивого к современным антибиотикам клинического штамма синегнойной палочки)-20 тест образцов (из них 5 контрольная группа) и культуру карциномы Эрлиха (45 тест образцов и 15-контрольная группа).

Для исследования использовали лабораторных мышей -60 тест объектов, которым внутрибрюшинно вводили 0.1 мл культурального материала)

Этапы пробоподготовки фотосенсибилизатора (хлорофилл содержащий препарат - содержит магний-порфирин, аналогичный по составу железопорфиру гемоглобина) включали в себя:

- 1) Выбор фотосенсибилизатора с наибольшим квантовым выходом люминесценции при его резонансном облучении (этот этап включает подбор зондирующего лазерного излучения)
- 2) Подбор оптимальных параметров дозы облучения при диагностике и лечении заболеваний (этап включает подбор таких параметров излучения и регистрации сигнала, которые не искажают сигнал за время записи и не повреждают здоровые клетки).
- 3) Выбор фотосенсибилизатора с наибольшим квантовым выходом люминесценции при его резонансном облучении (этот этап включает подбор зондирующего лазерного излучения)
- 4) Выбор оптимальных параметров дозы облучения при диагностике и лечении заболеваний (этап включает подбор таких параметров излучения и регистрации сигнала, которые не искажают регистрируемый сигнал за время записи и не повреждают здоровые клетки)
- 5). Оптимизация доказательной базы в том, что влияние кислорода без присутствия лазерного облучения не приводит к изменению интенсивности люминесцентного свечения препарата хлорофилла, т.е не вызывает (не активирует) фото-ингибирующую реакцию.
- 6). Активация препарата лазерным излучением. Описание явления активации.
- 7) Исследование действия активированного препарата на антимикробную активность (на модели тест объектов микробов-представлены ниже).
- 8) Исследование действия, активированного хлорофилл содержащего препарата на клетки карциномы Эрлиха (на тест объектах животных-лабораторные мыши).

9) Анализ результатов исследования, как обоснование возможности его клинического применения. Разработка алгоритмов и методики клинического применения активированного препарата (отражены в разделе клинические методики ЛКД).

Подробное описание результатов экспериментально-теоретического обоснования, применения активированного хлорофилл содержащего препарата для клинического применения при лечении гиперпластических процессов эндометрия представлено в разделе собственных результатов исследования.

## 2. 2 ПАЦИЕНТЫ

Обследованные 126 женщин были разделены на 2 группы, - основную (80) и группу сравнения (46), сопоставимых по возрасту с документально подтвержденным отсутствием гиперплазии эндометрия и хронического эндометрита.

Все женщины обратились в клинику в связи с бесплодием с целью экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Критерием включения было первичное или вторичное бесплодие, гиперплазия эндометрия и хронический эндометрит.

Критерием исключения стали атипическая гиперплазия эндометрия, рак эндометрия или отказ женщины от участия в программе исследования.

Основой для формирования групп был клинический и верифицированный морфологический диагноз ГЭ и ХЭ.

Анализ внутри групп проводился в зависимости от морфологического варианта ГЭ, морфологических особенностей ХЭ и сочетанных форм заболеваний.

К репродуктивному возрасту относили (согласно классификации, ВОЗ) женщин 18-47 лет.

Оценку репрезентативности групп определяли по формулам оценки репрезентативности для количественных и качественных признаков при неодинаковом числе наблюдений в группах.

На каждую пациентку заполнялась карта и электронная база данных, которая в дальнейшем позволяла анализировать данные, имевшие отношение к результирующему диагнозу, тактике ведения и лечения пациенток – возраст, жалобы или их отсутствие, семейный анамнез, наличие и характер течения экстрагенитальных заболеваний и их влияние на основное заболевание. Особое внимание уделялось гинекологическому анамнезу – менструальной функции, началу и активности половой жизни, возрасту наступлению первой самостоятельной беременности и её исходу – родам или прерыванию, способу прерывания, осложнениям после искусственного аборта, - кровотечениям, задержкам частей плодного яйца, повторным выскабливаниям, а также проводимому лечению, составу и его продолжительности. Чрезвычайно важное внимание уделяли спонтанным прерываниям беременности в поздних сроках, выскабливаниям при задержке частей плаценты, а также поздним послеродовым кровотечениям и выскабливаниям стенок матки в позднем послеродовом периоде.

Важное значение придавали методам контрацепции – внутриматочным контрацептивам и гормональной контрацепции, - возрасту начала приема КОК, продолжительности контрацепции и содержанию в них гормональных компонентов, ретроспективно оценивали влияние эстрогенов на овариальный резерв при длительном использовании ОК. Активно выявляли неблагоприятные социальные факторы, стрессовые ситуации, их уровень и продолжительность, психо-эмоциональные и вегетативные расстройства.

При изучении предрасполагающих факторов к возникновению и развитию гиперпластических процессов эндометрия оценивали семейную предрасположенность к ГЭ, миоме матки, опухолям по женской линии, а также метаболического синдрома, гипертонической болезни, сахарный диабет, влияющих на опухолевый рост.

Важным аспектом как для наступления беременности, так и для ГЭ является нарушение в системе гемостаза, поэтому принципиальным считали важнейшим этапом обследования изучения генетических факторов нарушения гемостаза, врожденным и приобретенным формам тромбофилии и наличие семейного тромботического анамнеза.

Важным разделом исследования являлось изучение инфекционного анамнеза и воспалительных заболеваний как генитальной, так и экстрагенитальной сферы, а также хронических заболеваний печени и желчевыводящих путей, заболевания желез внутренней секреции и нервной системы.

Оценку общего состояния женщины проводили на основании типа телосложения, характера оволосения, распределения подкожно-жировой клетчатки. В обязательное обследование входил осмотр, пальпация молочных желез и регионарных лимфоузлов. Для оценки нарушения жирового обмена использовали Индекс массы тела (ИМТ). Нормальным ИМТ считали 19, 5-25 кг/м<sup>2</sup>, избыточным – 25, 1-29, 9 кг/м<sup>2</sup>, 30 и более кг/м<sup>2</sup> - ожирением.

Гинекологическое исследование включало осмотр наружных половых органов, влагалища, осмотр шейки матки с помощью зеркал, бимануальное исследование.

## **2.3 Лабораторные и инструментальные методы исследования**

Всем пациенткам проводилось полное клинико-лабораторное обследование. Оно включало: клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, гемостазиограмму. Лабораторные исследования выполнялись в Центральной межклинической лаборатории Клинического Центра ПМГМУ им. И. М. Сеченова (зав. лабораторией – к. м. н. Е. П. Гитель).

У 46 пациенток проводили исследование гормонального профиля по фазам менструального цикла. Определяли содержание эстрадиола, ФСГ, ЛГ, пролактина и прогестерона в плазме крови на 5-6 и 21-22 день цикла.

Количественное определение эстрадиола, ФСГ, ЛГ и пролактина выполнено с помощью стандартных наборов иммунохемилюминисцентным методом на автоматической системе «ACS-180 PLUS»

Определение состояния шейки матки осуществляли с помощью, расширенной кольпоскопии и цитологического исследования. Кольпоскопию осуществляли на кольпоскопе фирмы «Karl Zeiss»

Ультразвуковое исследование осуществляли на аппарате «Acuson128XP/10 (США) с трансвагинальным конвексным датчиком ЕС7 с частотой 7МГц и трансабдоминальным датчиком С3 с частотой 3, 5 МГц, и «Toshiba-SSH-140А» с трансвагинальным конвексным датчиком с частотой 6, 5 МГц и проводили в режиме реального времени: общее исследование матки и придатков и цветное доплеровское картирование. Результаты фиксировали в электронной базе данных.

Оценивали размеры метки, структуру миометрия, наличие узлов миомы матки и их размеры, УЗ-признаки аденомиоза. Особое значение придавали изучению срединного М-эхо – оценивали размеры, структуру, наличие и состояние зоны между базальным слоем эндометрия и миометрием, что

является важным критерием его физиологического (патофизиологического) состояния.

Предметом особого внимания являлось изучение состояния яичников. Кроме стандартных измерений размеров и объема оценивали количество, размеры, распределение фолликулов, их соответствие дню менструального цикла, наличию и характеристикам желтого тела, взаимоотношением с фолликулами контр-латерального яичника, соответствию количественным и качественным характеристикам эндометрия. Оценивали косвенные признаки наличия и последствий воспалительного процесса, спаечных структур.

Определенное значение отвали признакам хронического воспаления в эндоцервиксе, - образованию кист, стриктур, спаечному процессу в целом.

Определяли корреляцию клинических, УЗИ- признаков и морфологических критериев состояния эндоцервикса и эндометрия. [64, 134, 231]

Допплерометрическое исследование было одним из краеугольных исследований, определяющих функциональную способность эндометрия обеспечить имплантацию и дальнейшее развитие беременности у женщин с ГЭ, очевидно изначально не приспособленного для этого.

Интенсивность кровотока в «местах» оценивалась по количеству регистрируемых цветовых сигналов от сосудов: минимальный кровоток (1-5) сосудов, умеренный кровоток (6-10 сосудов), выраженный кровоток (более 10 сосудов).

Важнейшим критерием оценки состояния «питания» эндометрия явилась импульсная доплерометрия. Производилась оценка кровоснабжения в маточных, аркуатных, радиальных, базальных и спиральных артериях, а также в сосудах впервые выявленных новообразований (мелкие узлы миомы матки, мелкие очаги внутреннего эндометриоза).

Отдельно отмечали отсутствие визуализации мелких артерий, изучали венозный кровоток на границе эндометрия. Критерием состояния кровоснабжения эндометрия были значения максимальной систолической и конечной диастолической скоростей кровотока (с помощью пульсационного индекса (PI), индекса резистентности (IR) систоло-диастолического отношения (S/D), которые отражали сосудистое сопротивление [62, 231, 234].

При необходимости выполняли эхографическое исследование молочных желез и маммографию, кроме того ультразвуковое исследование органов брюшной полости, почек и сосудов в разных регионах.

Всем женщинам производили «офисную» (мини - гистероскопию) для уточнения состояния полости матки и эндометрия. Использовали офисный гистероскоп фирмы «Karl Storz» с диаметром дистального отдела 2, 7 мм. Это не требовало применения вагинальных зеркал, использования пулевых щипцов, расширения цервикального канала и любого обезболивания, поскольку не причиняет боль.

Исследование производили в 1 или 2 фазу цикла в зависимости от цели исследования: для диагностики ГЭ - в 1 фазу цикла (5-9 день), для определения функционального состояния эндометрия, наличия секреции и её характера (после 21 вплоть до 38 дня) в зависимости от продолжительности менструального цикла.

Для получения объекта для морфологического исследования пользовались многоточечной биопсией (от 1-3 до 8-12) при очевидной гиперплазии. Только после получения морфологической интерпретации полученного материала выполняли хирургическое удаление эндометрия.

Традиционную гистероскопию производили в условиях внутривенной анестезии с помощью 7 мм гистероскопа фирмы «Karl Storz» (Германия) в условиях механического расширения цервикального канала д 7, 5 мм. В

качестве среды расширения использовали 0, 9% раствор хлорида натрия. Постоянное давление в полости матки поддерживалось с помощью гистеромата той же фирмы на уровне 70-100 мм рт. ст. В качестве источника света применяли ксеноновый источник света «Karl Storz»

Контрольное гистероскопическое исследование было обязательным.

### **Морфологическое и иммуногистохимическое исследование**

Исследование биоптатов и соскобов эндометрия осуществляли на кафедре и в лаборатории патологической анатомии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (зав. каф – проф. В. С. Пауков)

Для исследования ткани предварительно фиксировали в 10% фосфатном нейтральном формалине, обрабатывали в аппарате гистологической проводки тканей компании «Pool scientific Instruments» Швейцария и заливали в парафин. Общее время проводки и заливки объектов в парафин было в пределах до 24 часов. В последующем из каждого блока делали до 10-12 срезов толщиной до 4 мкм с дальнейшей окраской гематоксилин-эозином.

Иммуногистохимическое исследование выполнено на объектах от 42 пациенток. Объектом сравнения были женщины с ГЭ, ХЭ и без признаков патологии.

Использовались серийные парафиновые срезы толщиной от 4 мкм иммунопероксидазным методом двойных антител [169, 275] с предварительной демаскировкой антигенов в СВЧ-печи в течение 20 минут выявляли биомолекулярные маркеры: Ki-67, P53, TGF- $\beta$ , ER и PR.

Блокирование эндогенной пероксидазы осуществляли 3% раствором перекиси водорода в депарафинизированных срезах. Использовались покрытые адгезином (APES-ацетон) стекла.

После инкубации срезов с первичными антителами во влажных камерах в течение 16 часов при температуре 4 градуса по Цельсию, их промывали в фосфатном буфере и обрабатывали вторичными антителами, после чего инкубировали во влажных камерах при комнатной температуре в течение 60 минут.

В качестве вторичных антител использовали биотипированные антитела к мышинным иммуноглобулинам. Фиксацию локуса антитела с антителом осуществляли с помощью точки – фермент-пероксидаза в присутствии субстрата – перекиси водорода. В результате визуализировался объект в виде светло-коричневого окрашивания структур клеток.

## 2. 4 Метод диагностики ЛЖД

Лазерная раман - флюоресцентная диагностика и одномоментная биостимулирующая терапия проводили под объективным контролем, который включал в себя:

- ✓ Индикацию клеточной пролиферативной активности эндометрия (оценивается по показателям нормированной интенсивности люминесценции тканей эндометрия площадь под кривые флюоресценции)

- ✓ Оценку интенсивности микроциркуляции поверхностных слоев эндометрия (оценивается по показателям нормированного на интактную кожу внутренней поверхности бедра обратно отраженного сигнала лазерного излучения от тканей эндометрия – дно полости матки, её середина и внутренний зев- в норме=3 отн. ед.)

- ✓ Оценку интенсивности аэробного и анаэробного метаболизма (оценивается по показателям индекса аэробности-отношение площади под кривой флюоресценции  $665 \pm 5 \text{ нм}$  к  $695 + 5 \text{ нм}$ -в норме 1. 1-1. 5 отн. Ед.)

- ✓ Оценку нормальных и измененных тканей при воспалительных и неопластических процессах (доброкачественных и злокачественных- характеризуется высокими показателями интенсивности флюоресценции не соответствующими дню цикла и\или сдвигом максимума

флюоресценции в право-в норме интенсивность флюоресценции составляет в первую фазу цикла  $1/3-1/2$ -интесивности интактной ткани, во вторую- $2/3-1$  по отношению к интенсивности интактной ткани, по структурированности указанных показателей-т.е. в норме они при измерении во всех трех точках практически совпадают по своим амплитудно спектральным показателям) - рис 5. 14

✓ Мониторинг указанных метаболических клеточных и тканевых(морфометрических) изменений, оценку эффективности лечения, в том числе по нормализации указанных клинических, метаболических и морфометрических показателей. [8, 26]

Указанные характеристики отражают морфологические, метаболические и функциональные изменения в эндометрии.

В качестве фотосенсибилизирующего препарата для его активации в эндометрии использовали хлорофиллин - натрия. Известно, что способность живых организмов сохранять и накапливать хлорофилл и его производные свидетельствует о его важной роли в процессе жизнедеятельности. Это подтверждается интенсивным, особенно в последние годы, использованием препаратов хлорофилла в различных отраслях медицины [Решетников А. В. и соавт. 1999]. Выявлено регулирующее действие препаратов хлорофилла на ферменты в живом организме, в том числе на фибринолитические ферменты в крови человека. Обнаружено ослабление с помощью металлопроизводных хлорофилла действия токсинов и стафилококка, а также ингибирующее воздействие на мутагенез, вызванный бензпиреном. Установлено снижение уровня холестерина под действием медных, железных и натриевых производных хлорофилла. [139, 14, 194, 201]

Производные хлорофилла входят в состав тонизирующих лечебных препаратов и их применяют как противовоспалительные средства. Используются ранозаживляющие свойства препаратов хлорофилла. Производные хлорофилла обладают сильнодействующими иммуномодулирующими свойствами. В настоящее время производные

хлорофилла испытывают и используют в различных областях онкологии как ингибиторы новообразований, как агенты, способствующие фотодинамической инактивации раковых клеток.

Саногенетическое воздействие хлорофиллина, лазерного излучения и средств лекарственной поддержки обеспечивает выполнение важной задачи регенеративной медицины – метаболическое, структурное и функциональное (частичное или полное) восстановление ткани эндометрия, повышающее вероятность имплантации. За счет такого комплексного лечения у женщин с бесплодием, хроническим эндометритом и структурно-функциональной несостоятельностью эндометрия наблюдалось повышение регенеративной активности эндометрия.

На Рис. (слева) схематически показано использование комплексного подхода с применением ЛКД (или ЛКД в акушерско - гинекологической практике). В результате такого комплексного курса реабилитации и лечения у пациентов наблюдается нормализация внутриматочных показателей (индексы аэробности, нормированные интенсивности люминесценции) после лечения (Рис. справа).

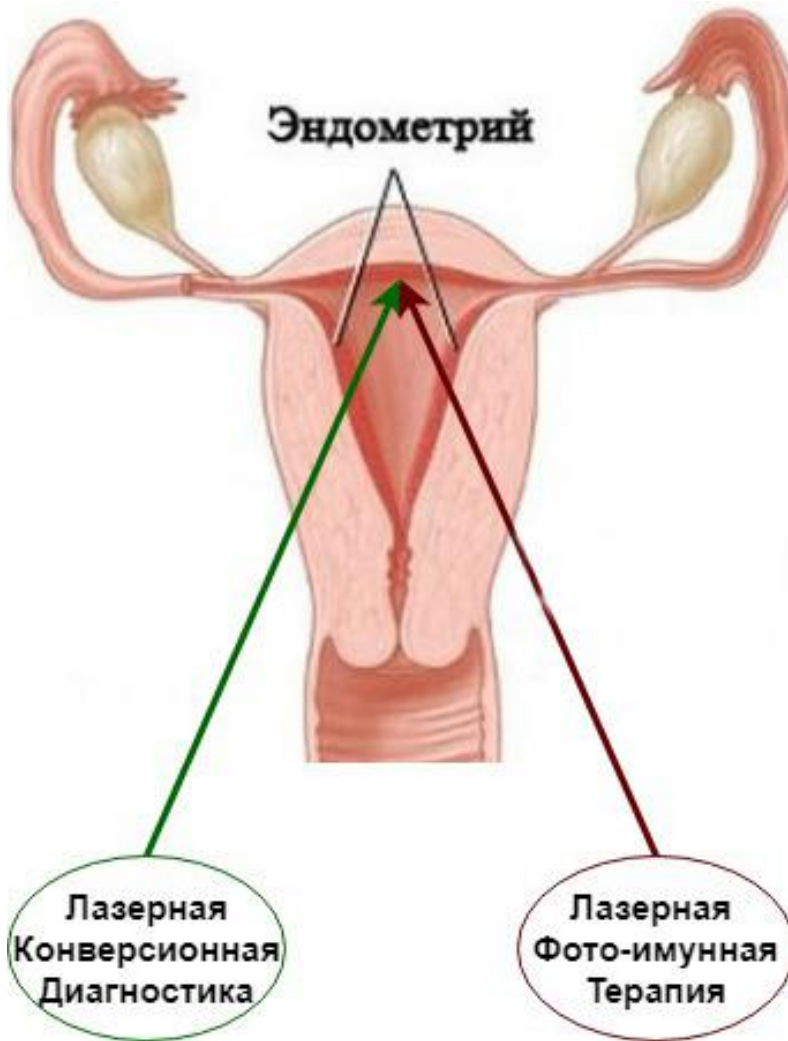


Рисунок 5. 13 Вариант технологической реставрации эндометрия при атрофии

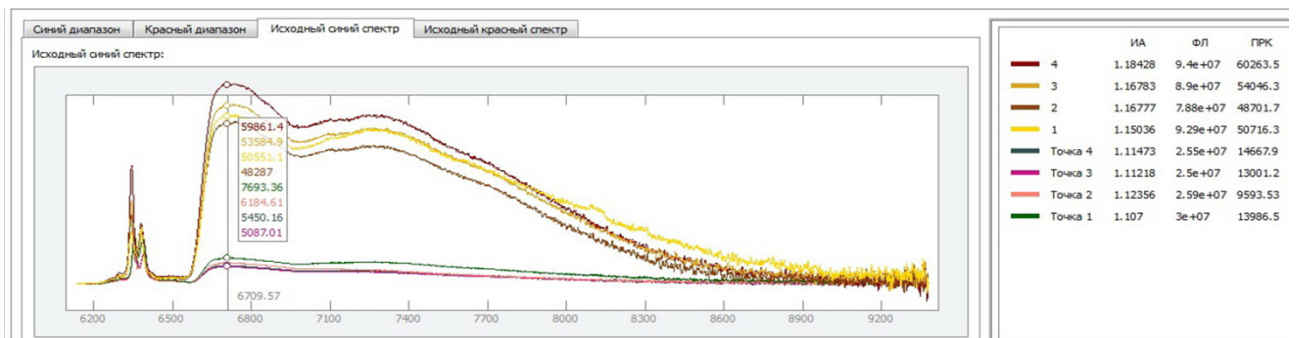


Рисунок 5. 14. Динамика спектральных характеристик до (нижние графики) и после лечения (верхние графики), слева-обратно отраженный сигнал, с правая-спектр флуоресценции.

В результате проведенных исследований была создана библиотека спектров органов малого таза у женщин.

Применение представленных медицинских технологий в комплексном лечении женщин с нарушенной структурой и функцией эндометрия приводит к повышению его регенеративной активности, активации его функциональных резервов. Это проявляется (как следствие комплексного лечения) увеличением индекса аэробности, микроциркуляции, пролиферативной активности, уровня метаболизма и рецептивности эндометрия. Уникальная, высокоэффективная, не имеющая аналогов комплексная медицинская технология (методики и аппаратура) для ЛКД и одновременного лечения воспалительно-дистрофических и гормонально-активных заболеваний органов репродуктивной системы у женщин на основе их физико-химической биоактивации (гормональная коррекция, антиоксиданты, антимикробная терапия - при выявлении, биостимулирующее саногенетическое лазерное внутриматочное облучение и применение хлорофилл содержащего препарата «Фотроник» для повышения активности местного и общего иммунного статуса организма, аэробности тканей эндометрия, активации его пролиферативной активности и фото-ингибирующего воздействия на микрофлору, т. е. активации саногенетических процессов).

Высокоточная и информативная «он-лайн» диагностика (скрининг и мониторинг) метаболических и морфометрических проявлений воспалительных и онкологических заболеваний женских половых органов (аналогов не выявлено) сравнима с данными гистологических исследований на 75-80%.

Сокращение времени диагностики по сравнению с традиционными исследованиями (биопсийный материал) практически в 200 раз (ЛКД – 3-5 мин., результат биопсии – 8-10 дней). Внедрение предлагаемых инновационных технологий, по нашему мнению, будет определять здоровое жизнедеятельное состояние женщины, её долголетие и здоровье нации.

Таким образом саногенетическую направленность разрабатываемого метода лечения предлагается реализовать на основе комплексного лечения, под контролем УЗИ и ЛКД диагностики, включающего в себя: фотосенсибилизаторы, антиоксиданты, внутриматочную ЛКД и одномоментное облучение эндометрия. Саногенетическое воздействие хлорофилл содержащего препарата, лазерного излучения и средств лекарственной поддержки обеспечивает выполнение важной задачи регенеративной медицины, направленной на метаболическое, структурное и функциональное (частичное или полное) восстановление ткани эндометрия. (Рис. 5. 14).

## **2. 5. Метод лечения – объемная фото-ингибирующая терапия (ФИГТ)**

Объемная ФИГТ с использованием препарата, содержащего активную форму хлорофилла (хлорин E<sub>6</sub>) была проведена 88 пациенткам – 45 женщинам с гиперплазией эндометрия и 43 пациенткам с сочетанными формами заболевания – гиперплазии эндометрия и хроническим эндометритом на кафедре акушерства и гинекологии № 1 Сеченовского Университета (зав. проф. А. И. Ищенко) и клиники репродуктивного здоровья «Арт-Эко» дир. д. м. н. Е. А. Калинина)

Объемная ФИГТ проводилась после лазерной конверсионной диагностики с учетом полученных данных – уровня аэробности (оксигенации), пролиферации, метаболизма, структурированности, микроциркуляции.

Препарат, содержащий хлорофиллин натрия, принимали дробно в режиме дискретного увеличения дозы от 0. 1 мл до 20 мл. Рассчитанный период приема препарата основывался на результатах экспериментального факта накопления препарата в тканях. Определяющим был период наибольшего накопления фотосенсибилизатора в эндометрии. Этот фактор

зависел от уровня кровоснабжения в сосудах, питающих эндометрий и составлял 12-18 дней.

После определения уровня накопления препарата и оценки спонтанного действия препарата на эндометрий с учетом активности без светового фотосинтеза (определялось с помощью лазерной спектроскопии) проводили внешнюю активацию фотосенсибилизатора с помощью излучения He-Ne лазера. Лазерный светодиод промышленного производства) в дозе 100 - 160 мДж в течении 3 минут. В случае рецидивирующего гиперпластического процесса дополнительно на фоне приема препарата per os проводили внутриматочную активацию фото-сенсбилизатора (фото-иммунную и фото-ингибирующую) в дозе 100-160 мДж 3-4 мин. Что соответствовало 1. 5-2, 0 мВт. на выходе световода.

Оценку результатов лечения осуществляли через 2-3 недели после его окончания. Контрольную оценку морфо-функционального состояния эндометрия производили через 4-6 недель после лечения с использованием гистероскопии, лазерной спектральной конверсионной диагностики и патогистологического исследования.

Таким образом выбор материала и методов исследования в целом соответствуют концепции цели и задачам исследования.

### ГЛАВА 3

#### **Экспериментально-теоретическое обоснование применения активированного хлорофилл содержащего препарата для клинического применения при лечении гиперпластических процессов эндометрия**

Метод ФИГТ основан на способности фотосенсибилизатора селективно (избирательно) накапливаться в злокачественных, патологически измененных или пораженных вирусами (микробами) клетках и изменять их структуру и функцию после воздействия на них источника света или лазерного излучения определенной длины волны. Свет приводит фотосенсибилизатор в возбужденное состояние с образованием в облучаемом биологическом объекте (БО) активных форм кислорода, что в свою очередь вызывает повреждение и некроз тканей, наиболее интенсивно накопивших данный препарат. Таким образом, подвергаются некрозу- «удаляются» только те клетки, которые были изменены (очаги дисплазии, опухоль и т. д.), в то время как здоровые клетки не реагируют на излучение. Более того эффект лечения (воздействия) существенно зависит от доступности облучаемого объекта для лазерного воздействия на него, глубины его эффективного проникновения в патологический очаг, концентрации фотосенсибилизатора в нем и объемной плотности мощности излучения лазера. В большинстве клинических наблюдений эффект лечения бывает недостаточным. Это может быть в результате недостаточного накопления фотосенсибилизатора в (БО), малой глубины проникновения лазерного излучения в ткани, что приводит к рецидивам заболевания и осложнениям. Это относится и к очагам воспаления. Кроме того, затрудненная анатомо-топографическая диагностика объекта существенно снижает эффект лечения.

Таким образом в своем исследовании мы исходили из клинически целесообразной необходимости повышения эффективности метода фотоингибирующей терапии (ФГТ) путем активации фотосенсибилизатора вне

организма и контролируемого управляемого его накопления в патологическом очаге.

Исходя из представленной концепции в качестве модельного объекта использовали культуру микробов (три вида линейных штаммов стафилококка, стрептококка и устойчивого к современным антибиотикам клинического штамма синегнойной палочки) - 20 тест образцов (из них 5 -контрольная группа) и культуру карциномы Эрлиха (45 тест образцов и 15-контрольная группа, в качестве объектов исследования использовали лабораторных мышей, которым внутрибрюшинно вводили 0.1 мл культурального материала)

Этапы пробоподготовки фотосенсибилизатора (хлорофилл-содержащий препарат (ХСП)-содержит магний- порфирин, аналогичный по составу железа порфирина гемоглобина) включали в себя:

А) Подбор фотосенсибилизатора с наибольшим квантовым выходом люминесценции при его резонансном облучении (этот этап включает подбор зондирующего лазерного излучения)

Б) Подбор оптимальных параметров дозы облучения при диагностике и лечении заболеваний (этот этап включает подбор таких параметров излучения и регистрации сигнала, которые не искажают сигнал за время записи и не повреждают здоровые клетки)

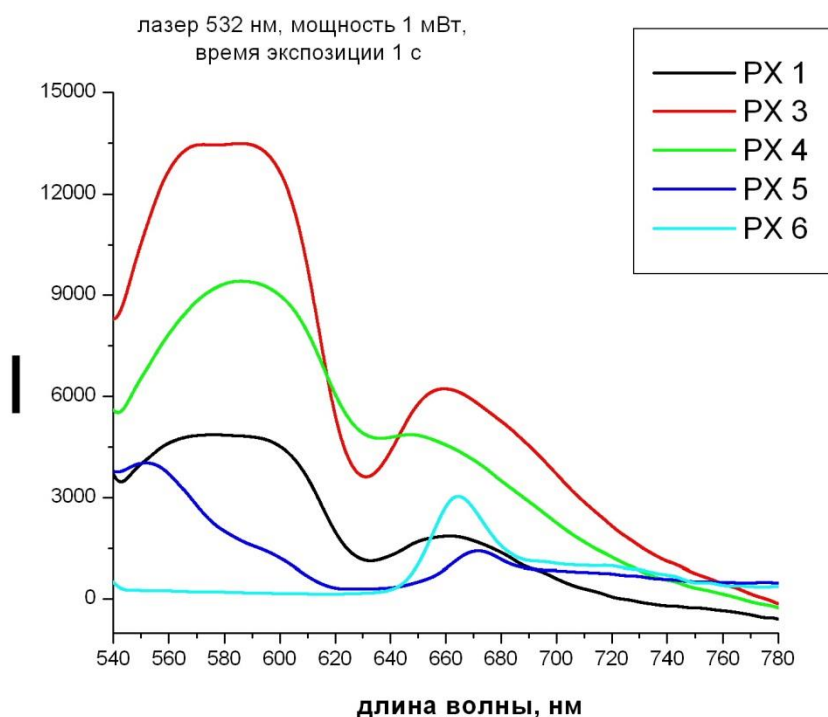


Рисунок 1.

На этом рисунке (рис. 1) показаны различные формы хлорофилла с разной степенью и очистки препарата (препарат 1, 3, 4, 5, 6). Эти препараты имеют относительно слабую люминесценцию и поэтому не подошли для диагностики и лечения, т. к. их накопление невелико в тканях и их сигнал люминесценции затруднительно диагностировать и эффективно возбудить для ФДТ лечения. Т. е. для выбора предпочтительного препарата необходимо было предварительно проводить исследование его флуоресцентных характеристик, оптимально соответствующих ФИГТ технологии.

На следующем рисунке показаны спектры люминесценции препарата хлорофилла (препарат 2 и 7), которые обладают наибольшим квантовым выходом необходимым и достаточным для указанного метода лечения неопластических и воспалительных процессов (рис. 2).

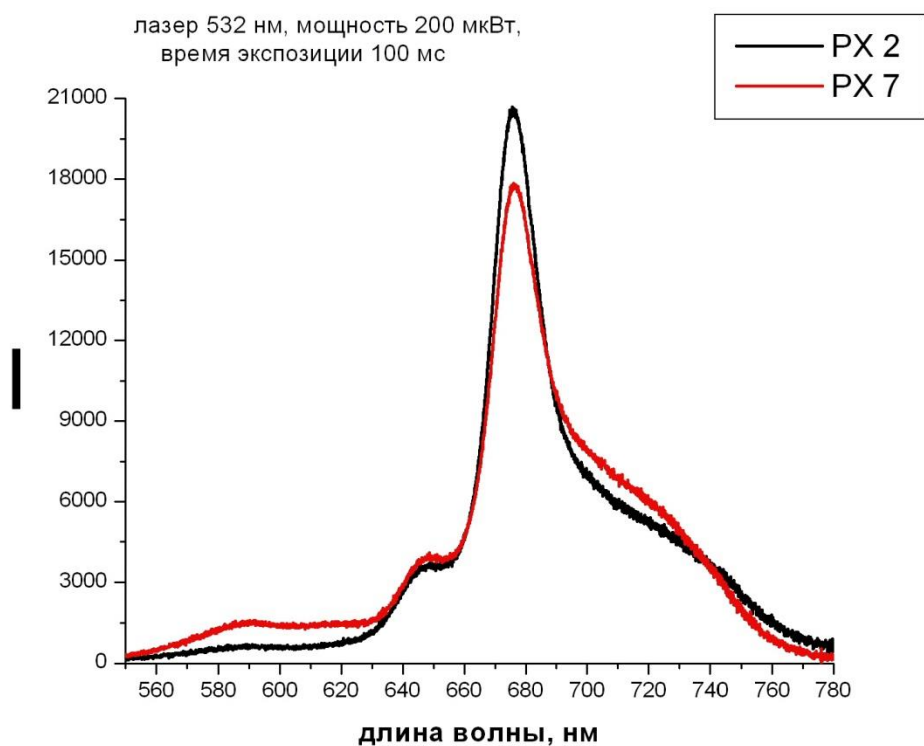


Рисунок 2. Флюоресценция препаратов РХ2 и РХ7.

Для диагностики указанных хлорофилл содержащих препаратов и контроля их поступления в ткани предварительно были выбраны оптимальные параметры времени и мощности излучения лазера для каждой длины волны, при которых не наблюдается эффект выгорания (рис. 3-5).

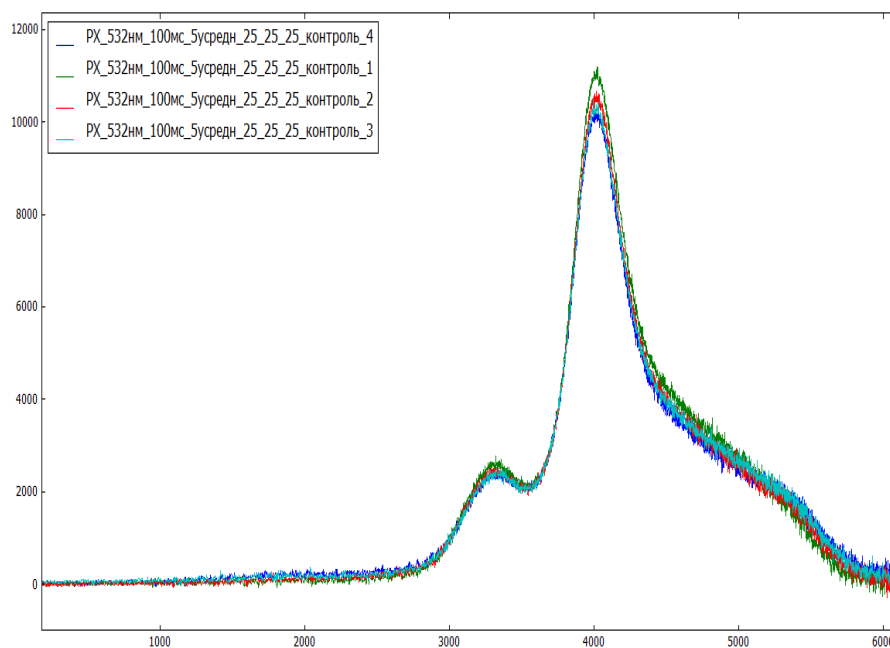


Рисунок 2. А. Отсутствие изменения интенсивности флюоресценции (тушения или выгорания флюоресценции)

В) Подобраны (рис. 2, 2А и рис. 3) оптимальные параметры регистрации сигнала (мощность 2, 5 мВт и время экспозиции 50 мс) для лазера 405 нм, при которых эффект выгорания составляет не более 5% (применяли для диагностики)

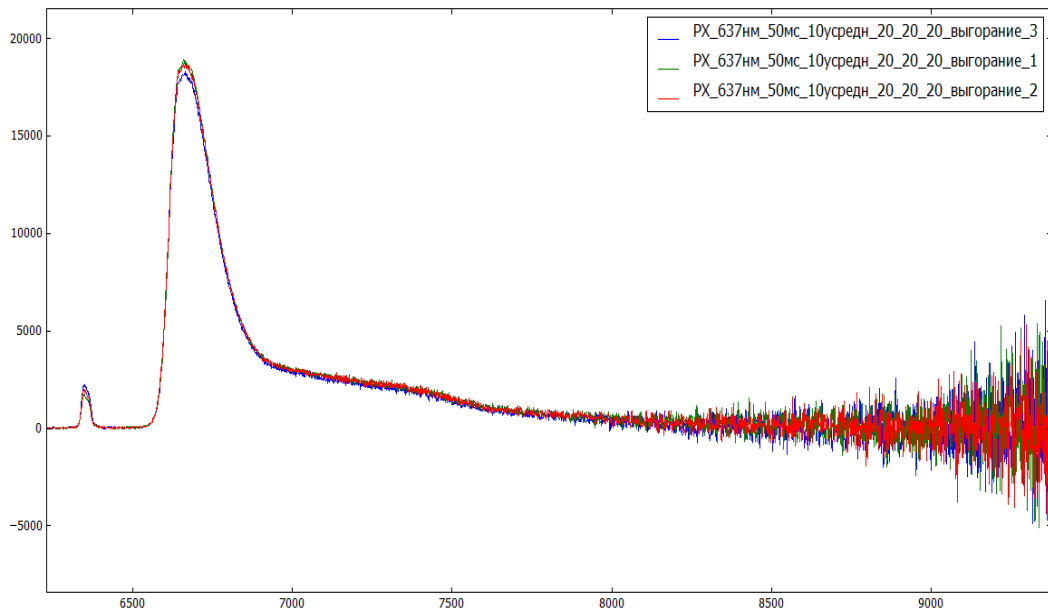


Рисунок 3. Подобраны оптимальные параметры регистрации сигнала (мощность и время экспозиции) для лазера 637 нм, при которых эффект выгорания составляет не более 6% (применяются для диагностики).

Были испробованы все схемы возбуждения препарата (основываясь на спектре поглощения Рис. 4) и показано, что наиболее эффективными длинами волн для возбуждения являются волны – 405 нм и 637 нм (что полностью согласуется с рисунком ниже)

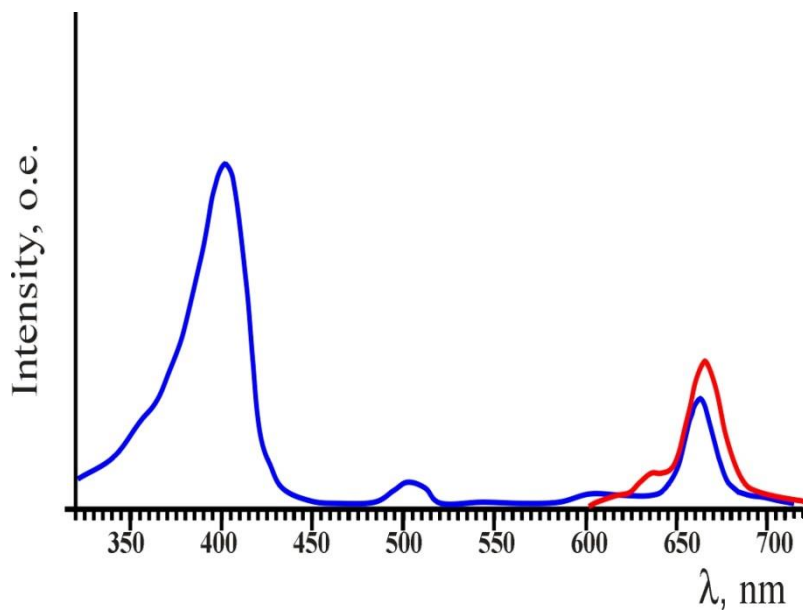


Рисунок 4. Спектр поглощения раствора хлорофилла в этиловом спирте с концентрацией субстанции 0,37 мг/мл. Красным показан пик флюоресценции с максимумом при 668 нм, синим-при 405 нм.

Г) Далее провели проверку суждения о том, что влияние кислорода без присутствия лазерного облучения не приводит к изменению интенсивности люминесцентного свечения препарата X., т. е. не вызывает (не активирует) ФИГТ реакцию (рис. 5).

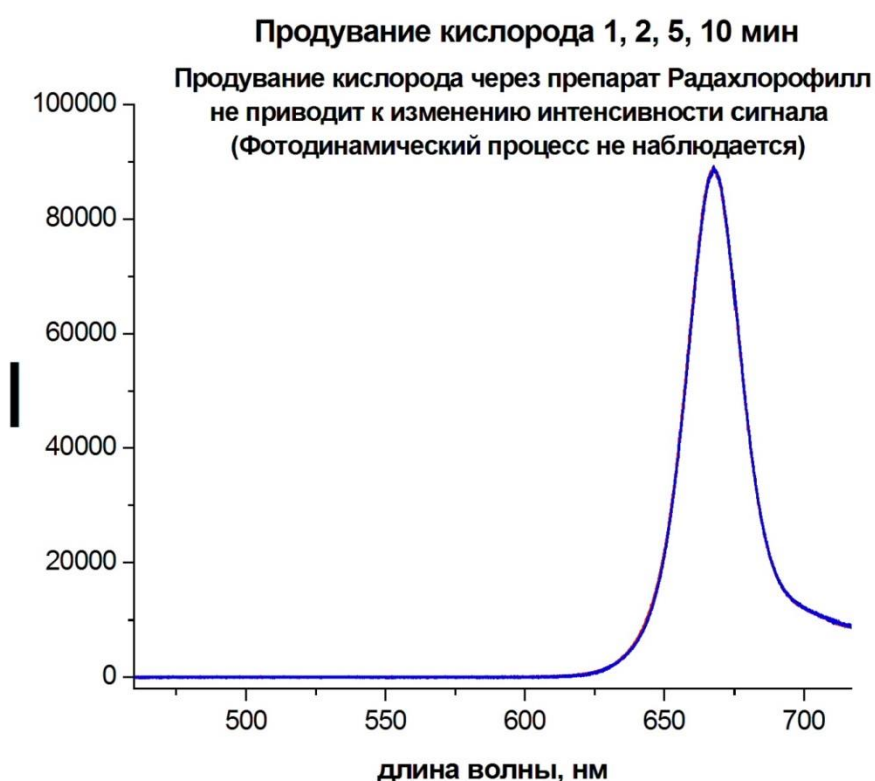


Рисунок 5. Отсутствие эффекта тушения флюоресценции при продувании O<sub>2</sub> через фотосенсибилизатор (без присутствия БО).

Описание методики активации препарата.

«Хлорофилл–содержащий препарат<sup>®</sup>» (ХСП) обладает способностью поглощать свет в видимой области, результатом чего является его фото-активация.

Классическая ФИГТ - релаксация возбужденного состояния РХ с переносом

энергии на растворенный в тканях молекулярный кислород и далее на углерод органических субстратов. Последнее приводит к окислительным процессам в биологических тканях, их повреждению и последующему разрушению (некрозу). «ХСП®» способен разрушать биологические субстраты после возбуждения светом с длиной волны 350-670 нм. Наиболее предпочтительной для ФИГТ полосой возбуждения является самая длинноволновая полоса поглощения РХ (662нм), т. к. с ростом длины волны растет проникающая способность света в биологические ткани (до 7мм). Сохраняющаяся при этом способность препарата флюоресцировать оставляет возможность для люминесцентной диагностики очагов микробо-содержащего и/или неопластического изменения тканей. Для этого препарат возбуждают в любую из полос – 406, 506, 536, 608 или 662нм и регистрируют максимальную и минимальную интенсивность флюоресценцию при 662 нм, отмечая границы патологического очага.

### **Моделирование объемной ФИГТ *in vitro***

Известно, что для образования синглетного кислорода ( $^1O_2$ ) необходимо наличие молекул ФС, при помощи которых происходит передача энергии фотонов молекулам кислорода (6, 7, 8). Известно также, что эффективными ФС образования  $^1O_2$  являются основные пигменты фотосинтеза, например, производные хлорофиллов. Синглетным кислородом ( $^1O_2$ ) называют электронно-возбужденные молекулы  $O_2$ , находящиеся на одном из двух синглетных уровней -  $1g^+$  и  $1g$ . Таким образом,  $^1O_2$  отличается от других активных форм кислорода (радикалов  $O_2^-$ , НОО, ОН или перекиси водорода  $H_2O_2$ ) тем, что для его получения требуется лишь поглощение энергии без химической модификации кислородных молекул – р электронные молекулярные орбитали ядра порфирина (18- $\pi$ -электронная ароматическая система) стабилизируют супероксид-анионы, образующиеся в результате

действия на ФС волновой энергии, приводя к химической устойчивости активированной формы ФС в течение, по крайней мере, нескольких дней.

После введения ФС в организм человека они накапливаются по свойству, присущему производным хлорина Е-6, в очагах опухолевого, инфекционного, паразитарного, дерматологического, иммунологического или аллергического заболевания, могут переносить атом кислорода, гидроксил-радикал, либо электрон как друг на друга, так и на биомолекулы оболочек патологически измененных клеток (ПИК) или микроорганизмов. Представленные данные теоретически обосновывают предложенную нами инновационную концепцию ФИГТ.

На основе представленного проводили: изучение свойств активации фотосенсибилизатора (2, 4, 5) в зависимости от длины волны лазерного излучения, параметров дозы облучения (2), метода доставки кислорода. Определение оптимальных параметров облучения для получения наибольшего амплитудного контраста между облученным и необлученным образцами. Изучение временной (рис. 6-7) кинетической зависимости эффекта восстановления люминесценции активированного препарата при отсутствии зондирующего (активирующего реакцию) его облучения и определение времени восстановления люминесценции при различных вариантах доставки кислорода (перекись, кислород, озон).

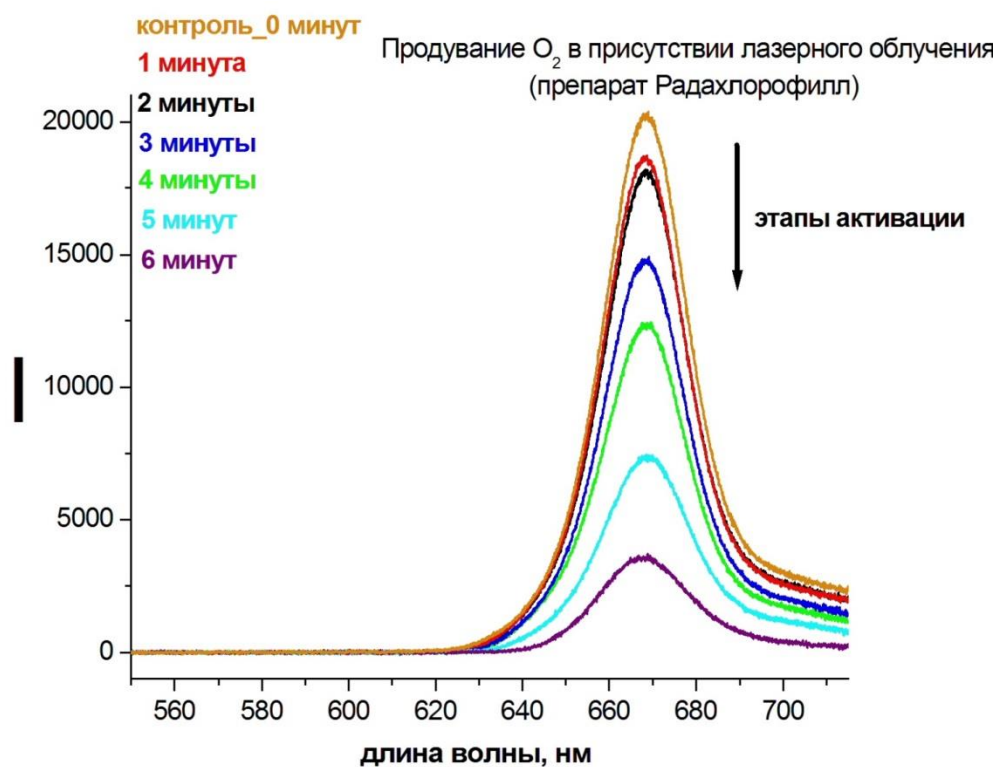


Рисунок 6. Активация препарата ИК-лазерным излучением (1. 06 мкм) в течение 6 минут при мощности 6 мВт (поглощенная раствором X энергия 2, 2 Дж). Отмечается уменьшение интенсивности флюоресценции практически в 7 раз.

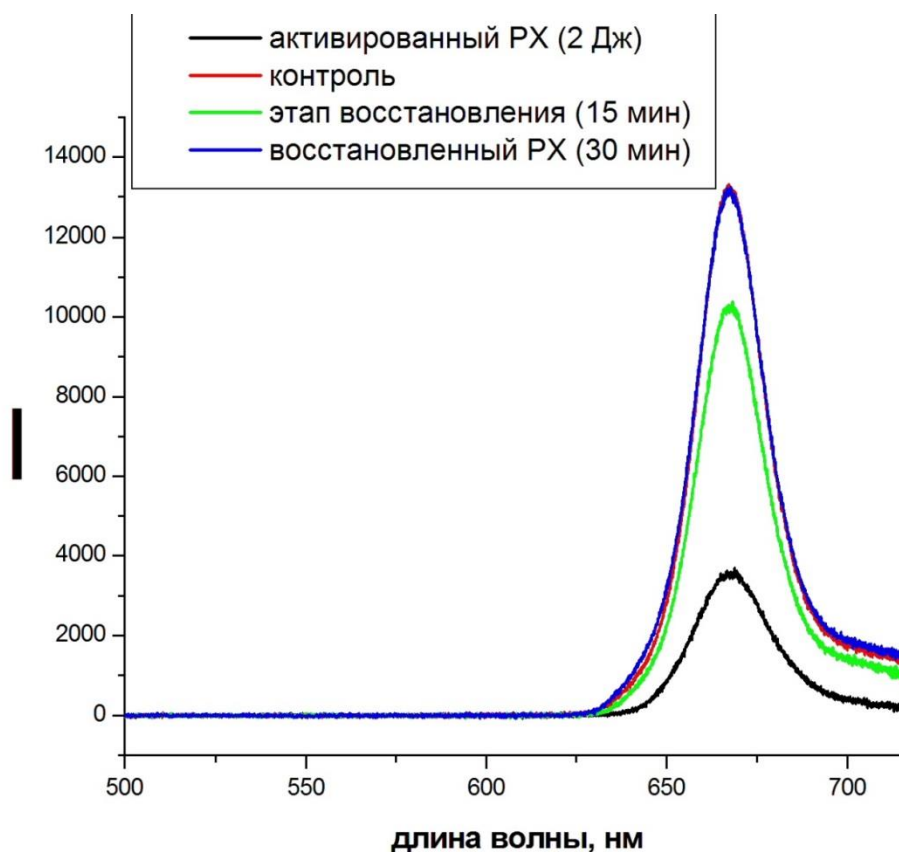


Рисунок 7. Ауто- восстановление амплитудно-спектральных характеристик препарата.

Таким образом восстановление амплитудно-спектральных характеристик (с высвобождением активных форм кислорода) активированного препарата хлорофилла (X) происходит без лазерного облучения. Процесс наглядно представлен на рис. 6-7: черный спектр – спектр активированного РХ (при передаче энергии 2 Дж). Зеленый спектр – этап восстановления (через 15 минут после активации без лазерного облучения). Красный спектр – контроль (необлученный РХ). Синий спектр – спектр восстановленного X после 30 минут без лазерного облучения.

Установлено, что выгорание люминесценции РХ: при поглощении 1 Дж – 5%, при поглощении 3 Дж – 18%, при поглощении 10 Дж – 25%. Установлено, что увеличение дозы более 30 Дж активность и интенсивность ответной реакции не увеличивает.

## Изучение эффекта накопления активированного и не активированного препарата X в органы и ткани (мышь)

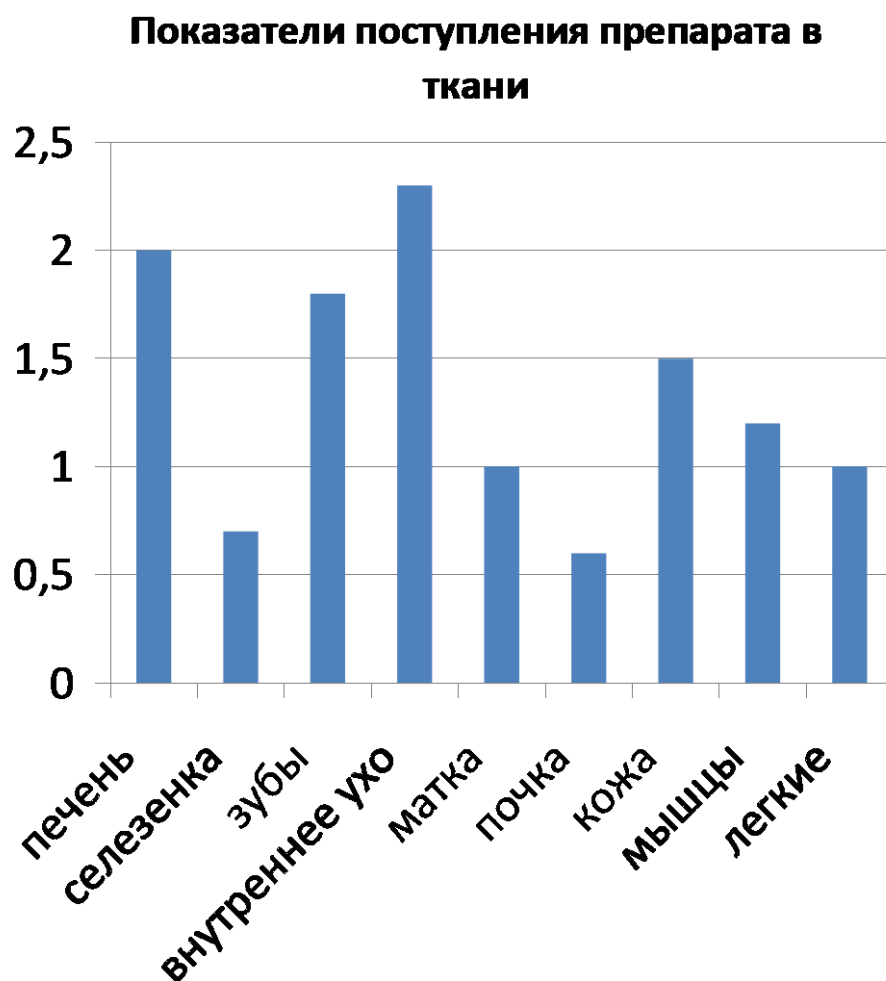


Рисунок 8. Накопление активированного и\или не активированного хлорофилл-содержащего препарата в ткани (мышь).

В эксперименте показана реальная возможность активации хлорофилл-содержащего фотосенсибилизатора вне БО и его накопление в органах и тканях. Это позволило впервые разработать методику объемной активированной ФИГТ микрофлоры.

Методика объемной активированной ФИГТ (in vitro).

Для проведения эксперимента были взяты два микроорганизма *Ps. aeruginosa* и *S. aureus*.

В качестве основы для эксперимента был взят диско-диффузионный метод, основанный на диффузии антибиотиков из носителя в плотную питательную среду и ингибиции роста исследуемой культуры в той зоне, где концентрация антибиотика превосходит МПК.

Для проведения эксперимента использовали сертифицированный аппаратно-программный комплекс-Ин Спектр М. (рис. 8).

Из чистой суточной культуры *Ps. aeruginosa* и *S. aureus*, выращенной на не селективной плотной питательной среде. С помощью дистиллированной воды, готовили инокулят 0. 5 по МакФарланду, что соответствует концентрации  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл. Полученный инокулят наносили на МХ агар.

Затем помещали диски пропитанные (ХСП), предварительно активированным кислородсодержащим препаратом и лазерным излучением с длиной волны 0. 63, 0. 514, 0. 405 нм в дозе 0. 2-20 дж/мл, в концентрации 0. 7%, 0. 07%, 0. 007%. В качестве контроля использовали стерильные диски, диски с не активированным препаратом (в тех же концентрациях), диски с препаратом после воздействия на него кислородсодержащего водного раствора, диски с кислородсодержащим водным раствором (перекись водорода 3%). Через 24 часа проводили измерение зоны задержки роста микроорганизма.



## Рисунок 9. АПК ИнСпектр М

В ходе проведенного исследования получили следующие результаты:

На рисунках (9-15) видно, что при активации ХСП наблюдалось подавление зоны роста микроорганизма через 24 часа, при этом не активированный препарат с *Ps. aeruginosa* не давал задержки зоны роста, а у *S. aureus* наблюдалась небольшое подавление зоны роста. При добавлении к активированному хлорофилл содержащему ХСП препарату кислородсодержащего водного раствора у *Ps. aeruginosa*, также наблюдалось увеличение задержки зоны роста.

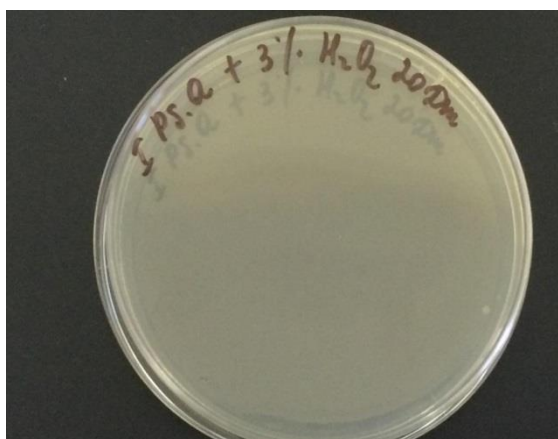


Рисунок 10. *Ps. aeruginosa* и ХСП с добавлением 3% $H_2O_2$ ,

активированный 20 Дж. -роста нет

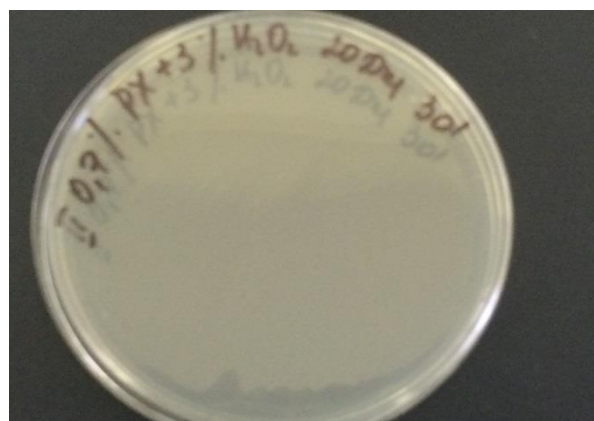


Рисунок 11. *Ps. aeruginosa* и ХСП с добавлением 3% $H_2O_2$ ,

активированный 20 Дж (добавлен. через 30 мин. после активации) -роста нет.

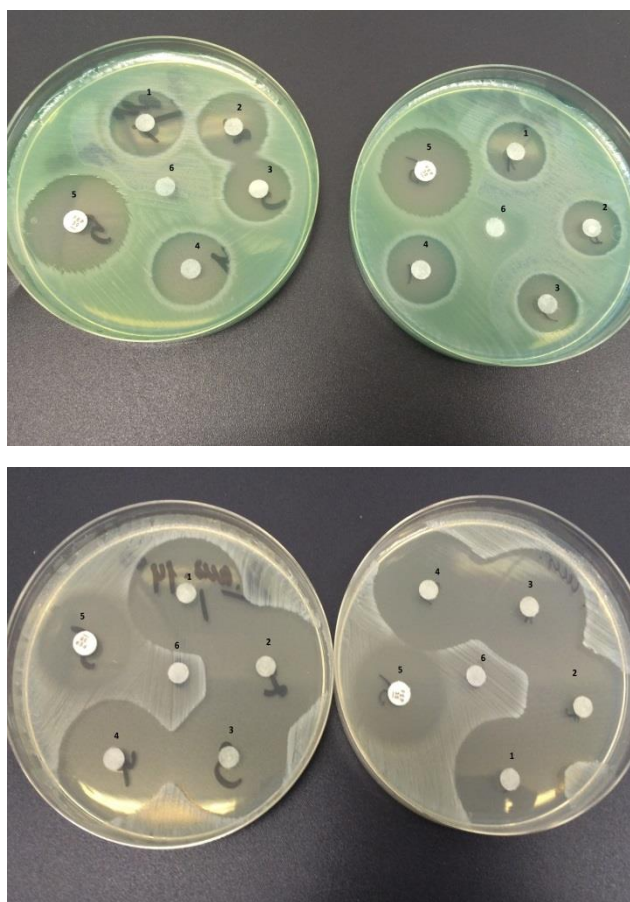


Рисунок 12. *Ps. Aeruginosa* и активированный ХСП. Рис12.

Аналогично для *Staphylococcus aureus*. Показано ФГД активированного препарата на микрофлору (зона отсутствия роста микрофлоры вокруг диска с активированным препаратом 25-30 см). В центре контрольный диск без препарата.

В результате проведенного исследования можно полагать, что при добавлении кислородсодержащего препарата к ХСП и активации его лазерным излучением с длиной волны 0. 63, 0. 514, 0. 405 нм в дозе 0. 2-20 дж/мл, происходит взаимодействие возбужденного фотосенсибилизатора с молекулой кислорода. В результате этого образуется синглетный кислород, который является цитотоксическим для живых клеток, будучи сильным окислителем биомолекул. Синглетный кислород также образуется в фагоцитах при реакциях дыхательного взрыва. Имеются доказательства высокой бактерицидной эффективности активных форм кислорода

(синглетный кислород, радикал супероксида, перекись водорода, гидроксильный радикал) в отношении большинства микробов. [11] Можно предположить, что взаимодействие активированного ХСП с микробной клеткой схожа с кислород-зависимой подсистемой и микробоцидной системой фагоцитов, к которой не выявлено привыкания.

Таким образом, способность фотосенсибилизатора накапливаться в измененных тканях, микробных клетках с реализацией эффекта летальной фото-сенсibilизации бактерий может быть использована при лечении антибиотико-резистентных штаммов патогенных микроорганизмов.

### **Апробация методики объемной активированной ФИГТ при лечении опухолей (карцинома Эрлиха у мышей)**

В исследовании использовали 60 лабораторных мышей (из них 15-контрольная группа). В опытной группе 15 мышей принимали не активированный препарат в разведении 1:10, 15-активированный препарат (активирован максимальной дозой лазерного облучения) в разведении 1:10, в следующей группе 15 мышей принимали аналогичный активированный препарат в разведении 1:1000. Дополнительно к группе с приемом препарата в качестве контроля использовали мышей, которые не принимали препарат-7 мышей (пили чистую воду-чистый контроль) и которые принимали раствор перекиси водорода 3%, разбавленный в 10 раз (донор кислорода, используемый для активации хлорофилл содержащего препарата). Прием указанных препаратов осуществляли 2 месяца. Через 2 месяца всем мышам (кроме группы с чистым контролем ввели внутривентриально взвесь культуры клеток карциномы Эрлиха объемом 0.1 мл (дополнительно культуру ввели еще 10 мышам, которые не принимали ни каких препаратов и пили чистую воду-второй чистый контроль). В дальнейшем проводили динамическое ежедневное наблюдение (для учета результатов исследования).

Установлено, что мыши в группе с чистым контролем были активны и живы в течении всего исследования (1 год). Мыши со вторым чистым контролем быстро увеличивались в размерах(асцит) и погибали на 4-6 день. Мыши, принимавшие не активированный хлорофилл содержащий препарат или раствор 1:10 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% погибали на 6-12 день. Мыши принимавшие активированный препарат в разведении 1:10 жили 21-24 дня, а при его разведении 1:1000-погибали в пределах 10 дней.

Таким образом, доказан антимикробный и противоопухолевый эффект хлорофилл содержащего препарата, активированного вне организма. Выявленный эффект существенным образом зависит от концентрации вводимого активированного препарата, длины волны и дозы лазерной его активации (оптимизация эффекта лечения). В итоге в методологическом, методическом и прикладном аспектах авторами разработаны и предлагаются для внедрения в широкую клиническую и лабораторную практику не только природно-подобные конвергентные информационные нано-технологии и широкий спектр аппаратно-программных комплексов для их реализации, но и адекватные методы лечения заболеваний и процессов микробной и неопластической природы, основанные на принципиально новых принципах- активированной объемной фотодинамической терапии. Клиническое применение методики представлено в следующей главе.

## ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ

Нами были обследованы 108 женщин в возрасте 32-47 лет, которые обратились в клинику с бесплодием с целью реализации репродуктивной функции.

Все пациентки были разделены на 3 группы:

- 1 группа – 43 женщины, у которых в процессе обследования перед ЭКО была обнаружена гиперплазия эндометрия
- 2-я группа – 45 женщин, у которых была верифицирована гиперплазия эндометрия и хронический эндометрит
- 3-я группа – группа сравнения - 20 женщин, у которых не было патологии эндометрия, а беременности в анамнезе не было по социальным причинам (никогда не были замужем, не имели постоянных половых партнеров, не «стоял» вопрос о беременности)

Первая группа в зависимости от морфологического диагноза была разделена на 4 подгруппы в зависимости от морфологического диагноза:

- А. Простая железистая гиперплазия эндометрия без атипии
- Б. Простая железисто-фиброзная гиперплазия эндометрия без атипии
- В. Сложная гиперплазия эндометрия без атипии
- Г. Сложная железисто-фиброзная гиперплазия эндометрия без атипии

Вторая группа была разделена на 2 подгруппы

- А. Простая железистая гиперплазия эндометрия и хроническим эндометритом без атипии
- Б. Сложная гиперплазия эндометрия без атипии и хроническим эндометритом

Пациентки с простой и сложной железистой гиперплазией эндометрия с атипией были исключены из исследования.

При формировании групп были использованы принципы разделения по морфологическому диагнозу согласно Международной классификации ВОЗ (1980).

Распределение больных с учетом морфологической картины эндометрия представлены в таблице №1

*Таблица №1* Формирование клинических групп пациенток на основании результатов гистологического исследования эндометрия

№	Результат гистологического исследования	Количество больных
А	Простая железистая гиперплазия эндометрия без атипии	29
Б	Простая железисто-фиброзная гиперплазия без атипии	12
В	Сложная железистая гиперплазия без атипии	5
Г	Сложная железисто-фиброзная гиперплазия эндометрия без атипии	7
А	Простая гиперплазия и хронический эндометрит	38
Б	Сложная гиперплазия и хронический эндометрит	7

Обследованные пациентки были в возрасте от 28 до 47 лет.

Средний возраст женщин:

- I -  $38 \pm 0,7$  лет,
- II -  $41 \pm 0,6$ ,
- III -  $39 \pm 0,2$  года.

Причиной обращения в клинику у всех женщин было *бесплодие*. При этом первичное бесплодие в I группе было у 12 (27,9%), вторичное у 31 (72,0%) женщин. Абсолютное бесплодие – отсутствие маточных труб - было у 3 (6,9%) пациенток I группы и у 2 (4,4%) женщин II группы. У женщин I группы маточные трубы были удалены по поводу трубной беременности. У двух женщин имели место повторные трубные беременности, у одной 3 внематочных беременности, при этом в одном случае была произведена туботомия и удаление плодного яйца, маточная труба была сохранена проведена органосохраняющая операция.

Продолжительность бесплодия у женщин

- I группы была  $3 \pm 0,6$  лет,
- второй  $4 \pm 0,9$  лет.

При этом женщины I группы уже имели в анамнезе 3-4 ( $3,45 \pm 0,4$ ) попытки ЭКО и ПЭ, и пациентки II группы – 4-6 ( $5 \pm 0,7$ ) попыток.

Искусственные аборты были у 12 из 31 пациентки I группы, при этом у 6 - повторные выскабливания в связи с остатками плодного яйца и кровотечениями. У 3-х женщин были поздние самопроизвольные и у одной - индуцированный выкидыш в сроке 17-21 неделя и выскабливание стенок матки, у одной из них через 3 недели повторное выскабливание по поводу позднего кровотечения.

Анализ данных обследования женщин первой группы показал, что большинство из них 38 (88,4%) ранее уже проходили процедуры ЭКО и ПЭ, но *безуспешно*.

Кроме того, эти женщины проходили неоднократные курсы физиотерапии – магнитотерапия, лазерная терапия и гирудотерапия и т.д.

У женщин II группы первичное бесплодие было только у 6 (13,3%), а у большинства – 39 (86,7%) имело место вторичное бесплодие.

Среди женщин со вторичным бесплодием типичным было

Прерывание первой беременности в возрасте 18-20 лет – 16 (35,6%).

Повторные ± искусственные аборт (от 1 до 10) имели 9 (20,0%) женщин.

Методом прерывания было выскабливание у 12 (75,0%),

Вакуум-аспирация – у 5 (31,3%)

Медикаментозный аборт – только у 2 (12,5%) пациенток.

Выскабливания стенок матки у 4 женщин были после поздних выкидышей, в том числе повторные, у двух женщин - выскабливания матки в раннем и позднем послеродовом периоде по поводу кровотечения и задержки частей плаценты.

Вторая по частоте подгруппа – 26 (57,8%) состояла из женщин с неразвивающейся беременностью в анамнезе.

Таблица №2

Количество	
<i>Пациенты</i>	<i>Неразвивающихся беременностей</i>
12	1
7	2
5	3
2	4

У двух женщин второй группы обе маточные трубы были удалены при повторных лапароскопических операциях:

у одной – по поводу трубной беременности и сактосальпинкса,

у другой – по поводу двусторонних гидросальпинксов.

Еще у 2 женщин были удалены по одной трубе по поводу хронического воспаления придатков матки и сактосальпинкса.

Женщины второй группы имели в анамнезе от 1 до 12 неуспешных попыток ЭКО и ПЭ ( $4 \pm 0,8$ ). При этом никаких мероприятий по коррекции статуса произведено не было.

Таким образом, большинство женщин обеих групп со вторичным бесплодием имели базисный «воспалительный» анамнез, в основе которого лежали грубые внутриматочные вмешательства – аборт, выскабливания в ранние и поздние сроки беременности с целью либо прерывания беременности, либо удаления неразвивающейся беременности.

Клиническая характеристика больных с перенесенными и хроническими гинекологическими заболеваниями представлена в таблице.

Анализ менструальной функции пациенток I группы установил, что *средний возраст менархе* у женщин этой группы составил  $13\pm 0,7$  лет, *нерегулярный менструальный цикл* имели 23 женщины с гиперплазией эндометрия. У каждой второй женщины отмечались обильные менструации, а в 34,7% наблюдений они были болезненными, обильными и продолжительными. *Средняя продолжительность менструации* составляла  $6,1\pm 1,5$  дней.

Анализ менструальной функции женщин II группы показал, что *достоверных различий в группах не было*.

Изучение репродуктивной функции пациенток с ГЭ показало, что 31 пациентка имела в анамнезе беременности. Нормальными срочными родами закончились только 17 беременностей.

Каждая третья беременность закачивалась искусственным абортom. Неблагоприятное течение послеабортного периода, осложнившееся воспалительным процессом матки и/или придатков было у 9 из 12 женщин. У каждой пятой были в анамнезе самопроизвольные выкидыши и неразвивающиеся беременности.

*Таблица №3*

Другие гинекологические заболевания у пациентов I группы	
<i>Заболевание</i>	<i>Пациенты</i>
Миома матки	14
Наружный генитальный эндометриоз	11
Аденомиоз	17
Доброкачественная патология шейки матки	4

Таблица №4

Операции у пациентов I группы	
<i>Место оперирования</i>	<i>Пациенты</i>
Матка	6
Яичники	12
Маточные артерии	3

В такой же степени был осложнен гинекологический анамнез у женщин II группы. Однако, обращает на себя внимание более отягощенный травматический анамнез пациенток. Среди перенесенных ранее гинекологических заболеваний обращает на себя внимание наличие в анамнезе у 36 женщин повторных выскабливаний матки в связи с неразвивающейся беременностью и самопроизвольными абортами, а также многочисленными диагностическими гистероскопиями и диагностическими выскабливаниями.

Таблица №5

Другие гинекологические заболевания у пациентов II группы	
<i>Заболевание</i>	<i>Пациенты</i>
Миома матки	21
Аденомиоз	13
Воспалительные заболевания внутренних половых органов	32

Заболевания шейки матки	7
-------------------------	---

Этим женщинам были выполнены различные хирургические пособия – лазерная вапоризация, радиоволновая хирургия.

Среди хирургических операций обращает на себя внимание не резко выраженная активность:

*Таблица №6*

Операции у пациентов II группы	
<i>Место оперирования</i>	<i>Пациенты</i>
Миомэктомия	3
Яичники	11
Д.о. молочной железы	3

Гиперплазия эндометрия была выявлена у пациенток I группы только в процессе обследования и подготовки к программе ВРТ.

- Только у 12 женщин она имела место в анамнезе.
  - *Лечение* по поводу обнаруженной гиперплазии эндометрия получала только 1 пациентка. Оно включало 3-х месячное получение гестагенов в циклическом варианте без контрольного обследования.
  - Остальные 11 женщин *никакого* лечения не получали.

Женщины II группы с гиперплазией эндометрия и хроническим эндометритом имели давний *многолетний* анамнез. У большинства пациенток

диагноз «Хронический эндометрит» был «закреплен» за ними в течение многих лет (до 16-х). В большинстве случаев он был выставлен непосредственно после первого эпизода вмешательства. Как правило, лечение было однократным после вмешательства и последующего осложнения. Пациентки получали гормональное моно-лечение (синтетические прогестины в течение 3 месяцев). В течение последующей жизни у 42 (43,3%) женщин были эпизоды аномальных маточных кровотечений, в связи с чем им были выполнены гистероскопия или без нее отдельное диагностическое выскабливание. В результате гистологического исследования были верифицированы разные формы гиперплазии эндометрия.

Средняя длительность заболевания составила  $11 \pm 0,4$  года.

Сопутствующие гинекологические заболевания

- Миома матки, аденомиоз, наружный генитальный эндометриоз был отмечен у 11 женщин.
- Органосберегающие операции на матке (миомэктомии) были выполнены у 5 женщин.

Анализ предыдущих гистологических исследований показал, что у женщин обеих групп железистая и железисто-фиброзная гиперплазия без атипии была зафиксирована в 82,5% случаев.

Изучение анамнеза выявило, что из экстрагенитальных заболеваний у пациенток с гиперплазией эндометрия и хроническим эндометритом наиболее часто (37% наблюдений) встречались

*Таблица №7*

Заболевания	Частота
заболевания сердечно-сосудистой системы, среди которых преобладала <ul style="list-style-type: none"> <li>○ гипертоническая болезнь,</li> <li>○ ишемическая болезнь сердца и</li> <li>○ вегето-сосудистые нарушения.</li> </ul>	37%
хронические заболевания печени и желчевыводящих путей	18,4%
Желчный пузырь	10%
Нарушение жирового обмена	27%
Сахарный диабет I и II типа	4,8%
Варикозная болезнь	14,6%
Доброкачественные заболевания молочной железы	8,4%

*Наибольший удельный вес заболеваний со стороны внутренних органов выпало на женщин старшего репродуктивного возраста.*

В результате проведенного обследования было выявлено, что у большинства женщин (более 82%) бесплодие сочеталось помимо гиперплазии и хронического эндометрита с *миомой матки и аденомиозом I-II степени*. Миома матки у 24% женщин была диагностирована впервые в процессе

общего обследования и подготовки к ЭКО. 12% женщин знали об этом, но никакого лечения не получали. И лишь у 5 женщин были оперативные вмешательства – миомэктомии. Миома матки, обнаруженная впервые, была диагностирована при УЗ –исследовании. Количество и размеры миоматозных узлов, как правило, не превышали размеры 6-8 недельной беременности, а их локализация не представляла препятствий для проведения ЭКО.

Таблица № Частота миомы матки и аденомиоза у женщин с гиперплазией эндометрия и хроническим эндометритом, и бесплодием.

Таблица №8

Наличие	Частота
аденомиоз в большинстве случаев обнаружен в сочетании с железистыми и железисто-фиброзными полипами	11,8%
сочетанная патология – миома матки и внутренний эндометриоз	6,1%

При анализе результатов влагалищных мазков у большинства женщин первой и второй групп (89% и 92%) была I и II степень чистоты. Остальным пациенткам диагностическая гистероскопия и биопсия производились после санации шейки матки и влагалища.

По результатам диагностической гистероскопии участки гиперплазии визуализировались в виде единичных, множественных полиповидных образований, а также диффузных, тотальных утолщений различной формы. В этих случаях эндометрий удалялся путем кюретажа. При сочетанных формах с полипами эндометрия дополнительной использовалось лазерное излучение

с длиной волны 1,06 мкм и 2,09 мкм с целью удаления активных зон роста и профилактики рецидива.

Гистероскопический контроль производился для объективной верификации полного удаления патологического эндометрия.

Обнаружено, что основная часть полипов, сопутствующих гиперплазии эндометрия (39,6%) по размерам была в пределах 3-4 мм в диаметре на тонком основании, и только у 5 женщин из I группы и 3 пациенток II группы были фиброзные полипы с широким основанием.

3 группа пациенток состояла из 20 женщин. Женщины не имели ни одной беременности по причине отсутствия постоянных половых партнеров и регулярной половой жизни.

Возраст женщин составил 36-47 ( $42 \pm 0,7$ ) лет.

Менструальная функция – достоверных отличий от женщин I и II групп нет.

У 2 из 20 пациенток были апоплексия яичника. У одной болевая форма без госпитализации, у другой – анемическая, была выполнена лапароскопия – коагуляция области разрыва яичника. Других манипуляций не было.

Таким образом, в обеих группах основным фактором нарушения менструальной функции фигурирует травматическое повреждение эндометрия в результате выскабливания и последующее воспаление.

Вторым по значимости выступил фактор гормональной дисрегуляции.

## ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ НАБЛЮДЕНИЙ

Диагностике и лечению гиперпластических процессов эндометрия (ГПЭ), как это уже было отмечено, посвящено большое количество научных исследований. Однако частота их у женщин не снижается. Особое значение эта проблема имеет у женщин репродуктивного возраста, когда не решен вопрос деторождения и ограничены методы лечения [5].

В результате исследования установлено, что в основной группе 35 из 88 женщин (39,7%) ранее никогда не имели беременности, 53 (60,2%) ранее имели беременности, при этом роды были только у 26 (29,5%). У остальных 62 (70,4%) пациенток были самопроизвольные выкидыши и неразвивающиеся беременности (1-3). 67 (76,1%) женщины не предъявляли каких-либо жалоб кроме отсутствия беременности, остальные 21 (23,8%) – жаловались на скудные менструации в течение 1-3 дней, возникшие в последние 1-3 года.

В анамнезе обращает на себя внимание высокая частота диагностических и вынужденных выскабливаний матки, связанных с прерыванием беременности 61 (69,3%) или с эвакуацией неразвивающегося плодного яйца. Важно, что многие диагностические выскабливания выполнялись в виде отдельных при отсутствии явных показаний на это.

При ультразвуковом исследовании локальное увеличенное М-эхо от 10 до 15 мм было обнаружено только у 32 (47,1%), у остальных 36 (52,9%) имела место неравномерная эхогенность эндометрия при явной его «гипоплазии», у 23 (26,1%) из них эндометрий был тонкий 4-7 мм. При доплерометрии только у 8 женщин кровотоки в сосудах матки были в пределах нормы. У 77 пациенток (87,5%) были выявлены нарушения гемодинамики различной степени.

Допплерометрическое исследование кровотока в восходящей ветви маточной артерии, а также в аркуатных, радиальных, базальных и спиральных артериях выявило отклонения от нормальных значений у 83 (94,3%) обследованных. Отмечались нарушения различной степени выраженности. У

17 (19, 3 %) пациенток отмечалось значительное повышение сосудистого сопротивления с нулевым диастолическим компонентом на уровне восходящих ветвей маточных артерий (у 15 пациенток без существенных различий в правой и левой маточной артериях и у 2 пациенток изолированно в левой маточной артерии), однако не было отмечено прямой корреляции с показателями кровоснабжения на уровне более мелких их ветвей.

У 32 пациенток (35, 4%) отмечалось значительное повышение сосудистого сопротивления на уровне радиальных артерий, а базальные и спиральные артерии не картировались вовсе или картировались единичные сосуды с венозным спектром.

Определялось «обеднение» сосудистого рисунка вплоть до отсутствия сигналов с уровня радиальных артерий у 21 пациенток (23, 9%) а также сигналов от базальных и спиральных артерий у 18 (20, 5%) пациенток.

В результате бактериологического обследования рост условно патогенной флоры был обнаружен у 20 (22, 7%) женщин. Наибольшее присутствие было у *Staphylococcus spp.*, *E. Coli*, *Enterococcus* и *Enterococcus faecalis*. У этих же пациенток были идентифицированы цитологические изменения клеток экто- и эндоцервикса, присущие дисплазии I и II степени воспалительного генеза.

При минигистероскопическом исследовании очевидные признаки гиперплазии – полипы, очаговые фокусы гиперплазии были выявлены только у 34 (38, 6%) пациенток. У всех остальных была картина неравномерно утолщенного эндометрия при средней его гипотрофии, одиночные и мультифокусные очаги гиперваскуляризации и ультра-мелкие сосочковые выросты. У подавляющего большинства женщин – 57 (64, 8%)- имели место признаки хронического эндометрита - очаговые и диффузные крупно- и мелкоочаговые геморрагии, а также фиброзные изменения и синехии как в цервикальном канале, так и в полости матки.

В результате патоморфологического исследования у 45 (50, 1%) женщин имелся морфологически верифицированный диагноз: хронический

эндометрит, у 17 (25, 0%) - признаки гормональной дисфункции и один из вариантов гиперплазии эндометрия. Среди морфологических признаков воспаления были: умеренно выраженная и выраженная лимфо- и лейкоцитарная инфильтрация эпителия и стромы, отек стромы, некроз и фиброз стромы эндометрия. Одновременно были верифицирована гиперплазия эндометрия у 43 (48, 7 %): железистые полипы эндометрия у 21 (23, 9%) женщин, железисто-фиброзные полипы эндометрия у 6 (6, 8%), простая гиперплазия эндометрия без атипии – у 9 (10, 2%) пациенток, сложная гиперплазия эндометрия без атипии у 4 (4, 5%) и сложная атипическая гиперплазия эндометрия у 3 пациенток.

Иммуногистохимическое исследование (у 21 пациентки) показало, что у всех женщин были явные признаки нарушения рецептивности эндометрия как в I, так и во II фазу менструального цикла, а именно снижение коэффициента Pg/ER до 1, 2-1, 6 при норме 2-4, снижение экспрессии LIF на 50-60 %, повышение CD 56 в 1, 5 раза, что свидетельствовало об увеличении NK-клеток в строме эндометрия. При этом у 12 (57, 1%) пациенток имело место снижение экспрессии как ER $\alpha$ , так и PR рецепторов, а у 9 (42, 9%) женщин только PR. Установлено, что средний уровень экспрессии ER- $\alpha$  в эпителии желез у женщин с ПГЭ на фоне хронического эндометрита составил 6, 0 $\pm$ 0, 7 балла Allred Score и был ниже, чем в контрольной группе, средний уровень PR в эпителии желез составил 5, 1 $\pm$ 0, 9 балла Allred Score ( $p < 0, 05$ ). У женщин со сложной гиперплазией эндометрия (СГЭ) на фоне хронического эндометрита уровень экспрессии ER $\alpha$  в эпителии желез составил 7, 3 $\pm$ 0, 8 балла, а уровень PR - 6, 7 $\pm$ 1, 8 балла Allred Score, что также отличалось от показателей группы сравнения. Кроме того, отмечено, что у 18 из 21 (85, 71%) женщин имело место неравномерное распределение ER- $\alpha$  и/ или PR. Определялись зоны с резким обеднением рецепторного аппарата ER- $\alpha$  как при ПГЭ, так и при СГЭ на фоне ХЭ. Количество пиноподий было 25-30%.

Таким образом, ведущим в нарушении рецептивности эндометрия у женщин с гиперплазией эндометрия на фоне хронического эндометрита было

преимущественное снижение коэффициента рецептивности за счет повышения экспрессии рецепторов к ER при снижении экспрессии PgR и LIF на 40-50% и превышении клона CD56 –позитивных лимфоцитов в 1, 5 раза.

Основным методом экспресс-диагностики и мониторинга динамики и эффективности лечения была лазерная флюоресцентная спектроскопия.

После клинико-лабораторного обследования пациенткам с гиперплазией эндометрия и хроническим эндометритом проводили объемную фото-активную терапию по разработанной методике. Для усиления ФАТ – эффекта дополнительно проводили внутриматочное лазерное облучение эндометрия в дозе 2 Дж.

Результаты флюоресцентной диагностики пациенток с хроническим эндометритом и гиперплазией эндометрия (ХЭ и ГЭ) - особенности и информативность.

Флюоресценция нормального эндометрия (пролиферативная активность) составила  $6-8 \times 10^7-10^8$  отн. ед. (ОЕ). Причем в первую фазу цикла-  $5-6 \times 10$  в 5-6 степени в отн. ед. (10-15 день цикла) и  $6-8 \times 10^7-10^8$  отн. ед. на 20-25 день цикла (в среднем). Индекс аэробности у женщин в норме составил в среднем 1. 2-1. 7 отн. ед. У женщин с хроническим эндометритом до лечения флюоресценция эндометрия составила  $5-8 \times 10^{5-6}$  отн. ед., а показатели аэробности 0, 7 - 1, 08 ( $0, 92 \pm 0, 04$ ) ОЕ, после - 1. 1-1. 7 ( $1, 50 \pm 0, 18$ ) ОЕ, что практически соответствовало норме. При этом надо отметить, что если в норме у женщин показатели аэробности в интактной области (кожа внутренней поверхности бедра) практически во всех случаях не превышали таковые показателей при внутриматочном измерении (последние практически всегда были на 5-10% выше-положительная конверсия), то при хроническом эндометрите наблюдалась обратная картина (отрицательная конверсия). Структурированность тканей эндометрия в норме (метаболическая-аэробность и морфометрическая - уровень пролиферативной активности эндометрия во все трех исследуемых зонах эндометрия) была хорошо выражена в норме и не соответствовала таковой у пациенток с ХЭ и ГЭ.

Интенсивность пролиферативной активности эндометрия по показателям интенсивности флюоресценции была снижена у пациентов с ХЭ и ГЭ и составляла  $2-7 \times 10^6$  ОЕ, что соответствовало 5-6 дню менструального цикла (при исследовании на 22-24 день) цикла, за исключением участков с гиперпластическим процессом, где она составляла до  $8-9 \times 10^{10}$  отн. ед. Микроциркуляция поверхностных слоев эндометрия (по показателям отраженного зондирующего лазерного излучения) была снижена на 30-50% ( $1,04 \pm 0,03$ ) и нормализовалась на фоне лечения так же, как и пролиферативная активность (ОЕ) и структурированность тканей (метаболическая и морфометрическая) во всех точках полости матки. В этом случае исследуемые амплитудно-спектральные показатели были практически равны (метаболическая и морфометрическая структурированность).

Полученные при ЛКД данные (флюоресцентная составляющая) показали, что проявления ГЭ эндометрия характеризуются увеличением интенсивности сигнала флюоресценции в 2-10 раз в различных её отделах (дно, середина, внутренний зев), некоторым сдвигом сигнала пика флюоресценции на 5-10 нм вправо (у 25-30% пациентов), нарушением спектральной структурированности практически у всех пациенток. Это сопровождалось высокой пролиферативной активностью клеток эпителия. При этом показатели аэробности и микроциркуляции в эндометрии были снижены практически во всех отделах матки на 25-55%. В процессе реабилитационных мероприятий все представленные показатели практически нормализовались. (см. рис. 2-4).

Таким образом, представленную лазерную конверсионную диагностику (флюоресцентная составляющая) использовали в качестве оптической биопсии (метаболической и морфометрической) для объективной оценки процесса реабилитации пациенток. На спектрограммах (рис. 2-3) показаны различия спектров люминесценции при ХЭ и при ХЭ и ГЭ. Зеленым обозначен спектр интактной кожи бедра. Синим, красным и коричневым - внутриматочные измерения.

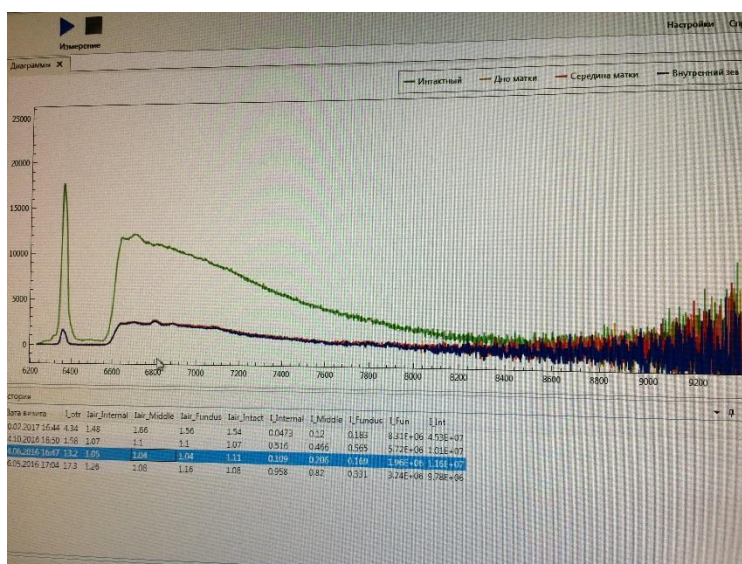


Рисунок 2. Пример спектрограммы у пациентки с хроническим эндометритом до ФДТ (15 д. м. ц.).

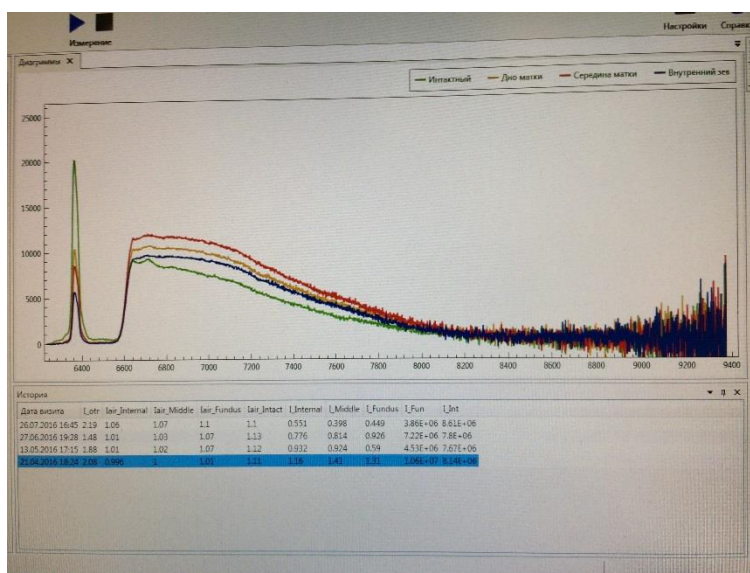


Рисунок 3. Пример спектрограммы у пациентки с хроническим эндометритом и ГЭ до ФАТ лечения (гиперпластический процесс в области внутреннего зева матки-верхняя кривая (15 д. м. ц.).

Оценку эффективности лечения и динамический мониторинг за пациентками осуществляли сразу после окончания лечения и в течение последующих 5-6 месяцев. Состояние эндометрия оценивали по клиническим, ультразвукографическим, эндоскопическим, морфологическим и спектральным критериям, а также микробиологическими и цитологическими исследованиями.

Анализ клинических данных после проведенной ФАТ показал, что у большинства пациенток 76 (86, 4%) изменился характер менструаций – удлинился период от 2 до 3, 5-4 дней, увеличился объем менструальной кровопотери при прежней скудной, изменилась цветовая менограмма, свидетельствовавшая в пользу физиологической (обеспечивая физиологическую ишемию, сепарацию и десквамацию эндометрия).

Жалобы на патологические выделения и дискомфорт во влагалище прекратились.

Ультрасонография показала соответствие эхографической картины эндометрия фазе менструального цикла у 69 (78, 4%) женщин. Особого внимания заслуживают изменения в сосудистом русле матки, обнаруженные при доплерометрическом исследовании.

За нормальные показатели принимались следующие значения индексов сосудистого сопротивления:

	PI	IR	S/D
uterine arteries	1, 42-3, 63	0, 73-0, 93	3, 97-14, 41
arcuate a. a.	1, 00-2, 83	0, 60-0, 89	2, 5-9, 5
Radial a. a.	0, 67-2, 00	0, 5-0, 8	2, 0-5, 0
Basal a. a.	0, 5-1, 51	0, 33-0, 67	1, 33-3, 00
Spiral a. a.	0, 6-1, 00	0, 43-0, 60	1, 67-2, 50

Следует отметить, что максимальные изменения показателей кровотоков были зафиксированы на уровне радиальных артерий. Из 32 пациенток с предшествующими нарушениями кровоснабжения на этом уровне у 27 (84, 4%) отмечено возвращение показателей к нормальным значениям (так средний показатель индекса резистентности IR изменился от 0, 94 до 0, 68!).

Из 18 пациенток с отсутствием сигналов от базальных и спиральных артерий только у 7 была отмечена положительная динамика. Однако стоит отметить, что эхографическая оценка сосудов субэндометриальной зоны и эндометрия представляет определенные трудности и является более оператор-зависимой, нежели оценка зоны радиальных артерий. Повышение сосудистого сопротивления в бассейне ветвей маточных артерий может являться критерием включения пациенток в программу с использованием ФАТ. Сосудистый статус рассматривался как показатель эффективности проводимой терапии и фактор прогноза последующей успешной имплантации.

Эндоскопическим контролем служила (офисная) минигистероскопия, выполненная на 5-7 день менструального цикла. Получены следующие результаты: признаки гиперплазии не обнаружены ни у одной пациентки. Вместе с тем, эндометрий без признаков воспаления и атипии был выявлен у 76 (86, 3%), неравномерно утолщенный в разных отделах полости матки эндометрий (что было расценено как персистирующее хроническое воспаление и дисфункция эндометрия) отмечен у 12 (13, 6%) женщин, признаки локального фиброза в эндоцервиксе – у 19 (21, 5%) пациенток, в эндометрии у 5 (5, 7%) женщин.

В результате морфологического исследования признаки гиперплазии эндометрия не выявлены ни у одной пациентки. В I фазе цикла признаки ранней и средней пролиферации без лимфоцитарной инфильтрации были у 72 (81,8%) женщин, у остальных имелись нерезко выраженные признаки хронического воспаления – преимущественно слабо выраженная очаговая лимфоцитарная инфильтрация стромы.

Иммуногистохимическое исследование показало увеличение PgR в клетках эндометрия до 92% у 15 (71, 4%) и ER – до 88 % у 6 (28, 6%) пациенток, что соответствовало 8-9 и 7-8 баллам (Allred Score), восстановление LIF до 7-9 баллов, CD 56 до 8-10 у 14 (66, 7%) женщин и CD 138 – 0 в поле зрения у 16 (76, 2%) пациенток.

В результате микробиологического исследования только у 2 женщин были обнаружены *Candida alb.* в  $10^2$ - $10^4$ , у 43 – *Lact. spp.*  $10^2$ - $10^5$ , у остальных роста не было.

Результаты лазерной флуоресцентной конверсионной спектроскопии:

После фото-ингибирующей терапии (Рис 4.) спектральная интенсивность всех отделов матки – в дне, центре полости и в области внутреннего зева нормализовались и практически совпадали по интенсивности, т. е. были структурированы – (в середине рисунка). После лечения показатели метаболизма, пролиферации и микроциркуляции вернулись к норме у 76 (86, 4%) женщин, стали лучше у 34 (38, 6%), незначительные изменения у 18 (20, 5%)

Индекс аэробности у женщин с хроническим эндометритом после ФАТ составил 1. 1-1. 7 ( $1, 56 \pm 0, 05$ ) ОЕ, ( $0, 7 - 1, 08$  ( $0, 92 \pm 0, 04$ ) ОЕ до лечения). Микроциркуляция поверхностных слоев эндометрия нормализовывалась на фоне лечения так же, как и структурированность тканей во всех точка полости матки, составив  $1, 58 \pm 0, 03$  (норма 1. 5-2. 0). Исследуемые амплитудно-спектральные показатели выравнивались практически во всех отделах матки (Рис. 4).

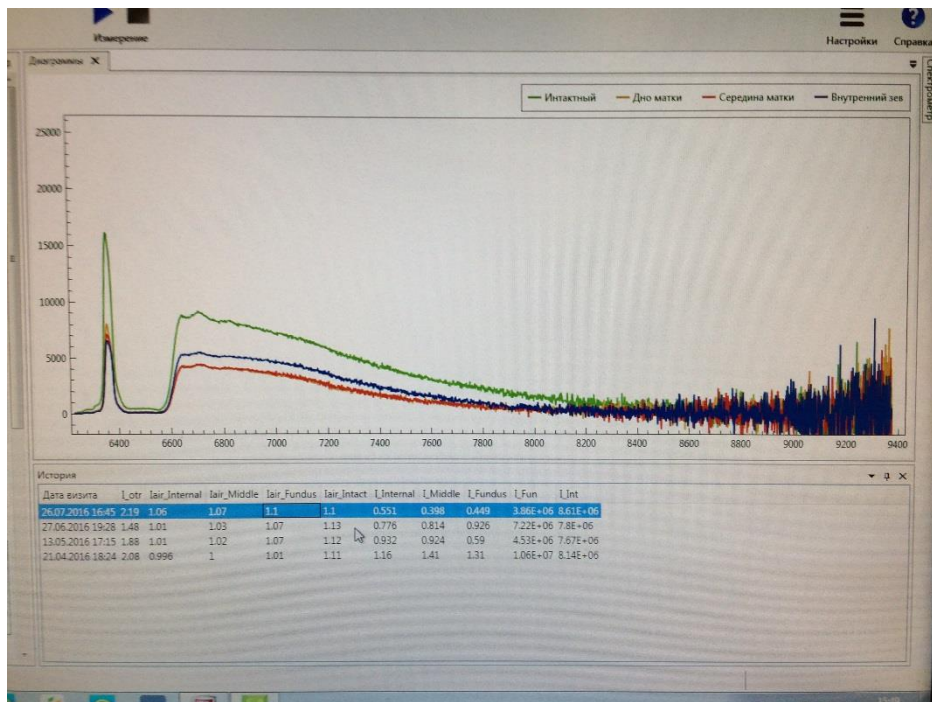


Рисунок 4. Пример спектрограммы у пациентки с хроническим эндометритом и ГЭ после ФАТ.

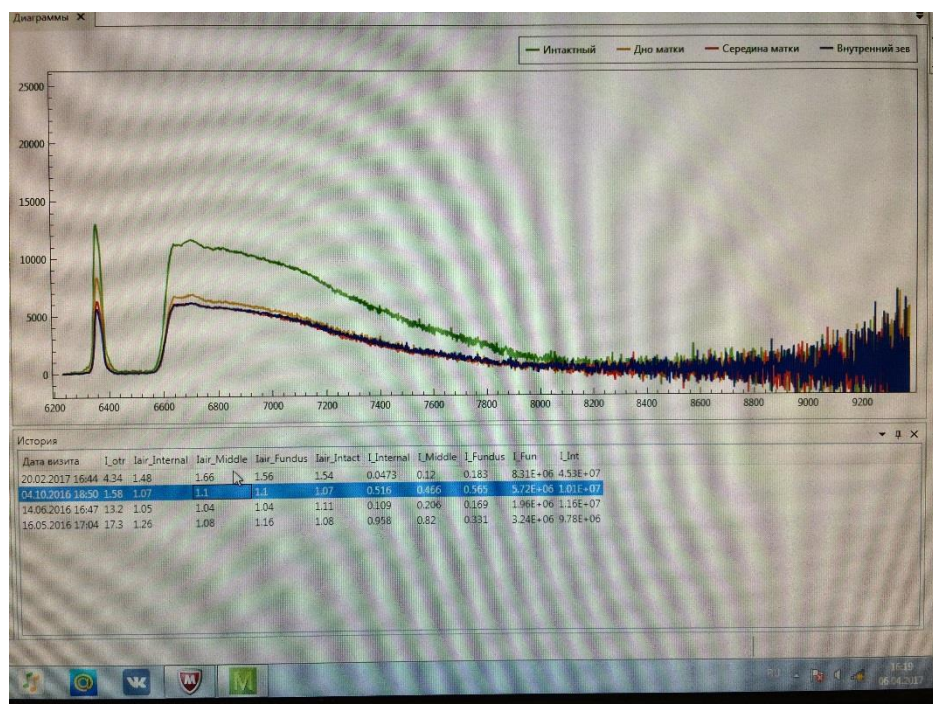


Рисунок 5. Пример спектрограммы у пациентки с гиперплазией эндометрия после ФАТ.

Таким образом, использование лазерной конверсионной экспресс-диагностики и объемной фото-активной (комплексной фотодинамической и фото-иммунной) терапии позволило восстановить морфофункциональное состояние эндометрия, что выражалось в нормализации процессов пролиферации, в повышении уровней микроциркуляции, оксигенации и метаболизма. Восстановление рецепторного аппарата эндометрия и гемодинамики в виде нормализации показателей кровотока на уровне радиальных артерий может также рассматриваться как показатель эффективности лечения и прогностическим признаком успешной имплантации.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о высокой адекватности (классическим общепризнанным клиническим и лабораторным методам исследования) и диагностической ценности не инвазивной лазерной конверсионной экспресс-диагностики гиперпластических процессов

эндометрия, в том числе в сочетании с хроническим эндометритом и выраженном терапевтическом эффекте объемной фото-активной терапии при лечении женщин с гиперплазией эндометрия в сочетании с хроническим эндометритом. Разработанный метод является разнонаправленным и патогенетически обоснованным, поскольку затрагивает различные механизмы развития заболевания.

#### Клинический пример.

Пациентка П., 38 лет, наблюдалась в клинике репродуктивного здоровья по поводу первичного бесплодия и готовилась вступить в программу ЭКО. Согласно приказу МЗ РФ проводилось комплексное обследование, в процессе которого была диагностирована гиперплазия эндометрия. Была произведена гистероскопия и раздельное диагностическое выскабливание эндометрия и эндоцервикса. Гистологическое заключение: сложная атипическая гиперплазия. Женщина отправилась в Германию на лечение. Немецкие врачи назначили гормональное лечение - гестагены – утрожестан в дозе 600 мг в непрерывном режиме на 3 месяца. Через 3 мес. они же выполнили гистероскопию и биопсию эндометрия из 4 разных точек стенок полости матки. Гистологический диагноз был тот же – атипическая гиперплазия эндометрия без малигнизации. Лечение было продолжено с увеличением дозы утрожестана до 800 мг в сутки. Через 3 мес. – повторная гистероскопия и биопсия эндометрия из 6 точек – диагноз атипическая гиперплазия эндометрия без малигнизации. На этом этапе женщина обратилась к нам. Обсуждался вопрос о радикальном лечении (удаление матки) в связи с неэффективностью консервативной терапии. Женщина отказалась. Тогда было предложено провести курс лечения с использованием хлорофилл содержащего препарата с предварительной эстракорпоральной активацией лазерным излучением с длиной волны 0, 63 мкм (объемная фотодинамическая терапия), что и было сделано в течение 6 недель. После этого была произведена гистероскопия с тотальным выскабливанием эндометрия, учитывая прошлый диагноз.

Гистологическое заключение: эндометрий с признаками атрофии. Атипических клеток не обнаружено.

## ГЛАВА 6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гиперпластические и воспалительные процессы эндометрия – гиперплазия эндометрия (ГЭ), полипы (ПЭ), хронический эндометрит (ХЭ), «гормональная регрессия эндометрия» (ГРЭ) - продолжают занимать важное место среди женских заболеваний. Это обусловлено их высокой частотой, молодым возрастом пациенток, сопутствующим бесплодием, социальным характером проблемы, влияющим на демографическую ситуацию, снижением «качества жизни» и возрастанием риска развития онкологических заболеваний. Следует заметить, что рак матки продолжает занимать второе место среди женских онкологических заболеваний.

Эти заболевания являются как отражением, так и следствием метаболических, морфологических и функциональных нарушений (местных и общих, специфических и не специфических) в репродуктивной системе женщины.

Хронический эндометрит, гиперплазия и полипы эндометрия, функциональная несостоятельность эндометрия являются частой причиной нарушения имплантации плодного яйца в естественных менструальных циклах и программах ВРТ, остановки развития беременности на ранних сроках (неразвивающейся беременности) и её самопроизвольному выкидышу.

К настоящему времени накоплено большое количество клинических исследований по диагностике и лечению гиперпластических и воспалительных заболеваний эндометрия. Как правило, это хорошо известные классические методы диагностики – гистероскопия, морфологические методы диагностики биоптатов, уточняющие методы иммуногистохимической верификации. Ориентирующими методами являются УЗИ и доплерометрия, МРТ.

Вместе с этим часть методов являются инвазивными, часть не позволяют предположить сущность морфологического процесса.

Оптические методы, как оптическая экспресс биопсия являются достижением отечественной науки и отмечены Государственной премией РФ в 2002 году (Александров МТ. «Лазерная клиническая биофотометрия», М., 2008. Разновидность оптической спектральной биопсии-лазерная конверсионная диагностика(ЛКД)и её составляющие-Раман и/или люминесцентная диагностика. Она, будучи не инвазивным методом, позволяет отражать характер метаболизма, структуры и функции биологических тканей и является при экстра- и интракорпоральном обследовании органов репродуктивной системы у женщин определенным надеживающе точным способом экспресс-диагностики морфологической структуры функции тканей вообще и эндометрия, в частности. Результаты экспресс-диагностики гиперпластических и воспалительных процессов эндометрия с использованием экспрессных люминесцентных спектральных технологий коррелируют (адекватны) с морфологическим исследованием на 96%. При этом во временном аспекте исследование не превышает 30 секунд, что несравнимо с длительностью гистологических методов.

Оптические методы ЛКД, её Раман/или люминесцентная составляющие все больше привлекают внимание исследователей и практических врачей вследствие их высокой информативности, высокой чувствительности и специфичности и, главное, не инвазивности. Эти методы наиболее часто используются при определении собственной флюоресцентной ЛКД составляющей тканей, главным образом с использованием экзогенных фотосенсибилизаторов (наведенная флюоресценция). Однако, применение этих веществ часто вызывают побочные эффекты (повышенное световосприятие, аллергические реакции), пациентов необходимо выдерживать несколько суток в затемненном помещении.

При этом, приборы, регистрирующие спектральные сигналы, с точки зрения аналитической чувствительности, метрологического пособия все еще несовершенны. Разработанные в последние годы аппаратно – программные комплексы обладают спектральным разрешением в пределах  $1\text{Å}$ , что в 60-80 раз выше, существующих отечественных и зарубежных аналогов. Их чувствительность и специфичность выше известных в настоящее время в  $10^4$  раз.

Проведенные до настоящего времени экспериментальные и клинические исследования позволили определять:

✓ Определение интенсивности клеточной пролиферативной активности эпителиальных клеток эндометрия и её мониторинга.

✓ Оценку интенсивности микроциркуляции (оценивали по показателям интенсивности обратно отраженного сигнала лазерного излучения)

✓ Оценку интенсивности аэробного и анаэробного метаболизма (оценивали по соответствию специфичности спектра аэробному или анаэробному типу метаболизма.

✓ Оценку морфометрической и функциональной структурированности (соответствия) нормальных и измененных тканей в различных отделах матки в соответствии дню менструального цикла и проводить мониторинг их клеточных и тканевых изменений.

✓ Оценку эффективности лечения, его мониторинг, определение сроков реабилитации пациентки.

Однако эти исследования по определению метаболических и структурно-функциональных изменений касаются только воспалительных заболеваний женских половых органов и прежде всего хронических эндометритов, общехирургической патологии и других заболеваний, и процессов микробной и опухолевой природы. Исследования по экспресс-диагностике гиперпластических процессов, мониторинга их лечения, оценки

его эффективности, аппаратно-программное обеспечение, алгоритмы и клинические методики исследования эндометрия при гиперпластических процессах к моменту настоящего исследования не были разработаны и не проводились.

Методы лечения гиперпластических процессов эндометрия и воспалительных заболеваний известны и относительно достаточно разработаны. При этом также хорошо известно, что лечение хронического эндометрита отличается крайне низкой эффективностью, несмотря на применение многообразия лекарственных препаратов и физических факторов, включая курортные. Для лечения гиперпластических процессов эндометрия используются многочисленные гормональные препараты - эстроген-гестогенные, прогестагенные, агонисты и антагонисты гонадотропинов, а также хирургические технологии – лазерная абляция эндометрия, резектоскопия, радикальные операции. Однако для женщин с бесплодием, особенно молодых и в программах ВРТ, большинство этих методов неприемлемы. Поэтому крайне актуальным является поиск оптимальных и рациональных методов как диагностики, так и лечения указанной патологии.

В доступной литературе имеются сведения об использовании метода флюоресцентной диагностики заболеваний женской половой сферы на основе регистрации аутофлюоресценции. Однако низкая чувствительность приборов (особенно аналитическая чувствительность и специфичность), заставляет использовать индукторы флюоресценции протопорфирина IX в виде 5-аминолевуленовой кислоты или иных веществ.

Известно, что глубина проникновения в ткани возбуждающего излучения в ближнем ультрафиолетовом диапазоне составляет в пределах 0, 2 мм, в зеленой области – до 1 мм. Возбуждение флюоресценции в красном и инфракрасном диапазоне спектра (0, 62-0, 78 мкм) составляет от 1-3 мм до 2-8 мм. При этом известно, что на качество результатов исследования мало

вливают, в следствии слабой аналитической чувствительности по аутофлюоресценции, такие факторы как неоднородность исследуемой поверхности ткани и уровень кровенаполнения [Лощенов В. Б., 2000]. Результаты проведенных нами исследований на высокочувствительном спектрометре нового поколения - АПК ИнСпектр М дают основание полагать, что аутофлюоресценция (обратно отраженный зондирующий сигнал и спектр флюоресценции) измененных тканей вследствие гиперпластических и воспалительных процессов скорее всего обусловлена повышенным содержанием эндогенных порфиринов, что, в итоге, позволяет регистрировать флюоресценцию нормальных и патологически измененных тканей с высокой точностью.

Для достижения поставленной цели и решения задач исследование было разделено на 2 части – экспериментальную и клиническую.

Целью экспериментальной части была разработка метода лазерной конверсионной диагностики гиперпластических процессов эндометрия и объемной фото-ингибирующей терапии.

Для исследований использовали аппаратно-программный комплекс «Ин- Спектр М» с оптоволоконным датчиком. Образцы аппаратуры их предназначение и клиническое применение представлены ранее.

На этом этапе исследования были решены следующие задачи:

- 1) Выбор фотосенсибилизатора с наибольшим квантовым выходом люминесценции при его резонансном облучении (подбор зондирующего лазерного излучения)
- 2) Подбор оптимальных параметров дозы облучения при диагностике и лечении гиперпластических процессов эндометрия (подбор таких параметров излучения и регистрации сигнала, которые не искажают сигнал за время записи и не повреждают здоровые клетки).

3) Обоснование и отработка клинического алгоритма активации препарата (описание явления активации и поступления препарата в репродуктивные органы малого таза) лазерным излучением и экспериментальное подтверждение его фото-ингибирующего действия на пролиферативную активность биологических объектов - на тест объектах микрофлоры и лабораторных мышах (карцинома Эрлиха).

4) На основании исследований по пункту 1-3 объективно обоснован выбор оптимальных параметров лазерного облучения для диагностики и лечения хронического эндометрита (этап включает подбор и таких параметров излучения и регистрации сигнала, которые не искажают сигнал за время записи и не повреждают здоровые клетки).

В результате проведенного экспериментального исследования можно полагать, что при использовании хлорофилл содержащего препарата в условиях вне организменной активации лазерным излучением приводит к его накоплению в патологических клетках эндометрия и к активации клеточного апоптоза. Это определяется тем, что при добавлении кислород-содержащего препарата к ХСП и активации его лазерным излучением с длиной волны 0, 63, 0. 514, 0. 405 мкм в дозе 0. 2-20 дж/мл, происходит взаимодействие возбужденного фотосенсибилизатора с молекулой кислорода. В результате этого образуется синглетный кислород, который является цитотоксическим для живых клеток, будучи сильным окислителем биомолекул. Синглетный кислород также образуется в фагоцитах при реакциях дыхательного взрыва. Имеются доказательства высокой бактерицидной эффективности активных форм кислорода (синглетный кислород, радикал супероксида, перекись водорода, гидроксильный радикал) в отношении большинства микробов. [11,151,194,196] Можно предположить, что взаимодействие активированного ХСП с микробной клеткой схожа с кислород-зависимой подсистемой микробицидной системой фагоцитов, к которой нет привыкания.

Таким образом, способность фотосенсибилизатора накапливаться в измененных тканях, микробных клетках с реализацией эффекта летальной фото-сенсibilизации бактерий должна проявляться, по-видимому, и при лечении гиперплазии эндометрия и хронического эндометрита, в том числе при присутствии антибиотико-резистентных штаммов патогенных микроорганизмов (что объективно показано нами в эксперименте).

Другим доказательством воздействия разработанной технологии на пролиферирующие клетки - это изучение её эффективности в эксперименте (мыши с карциномой Эрлиха).

Как было упомянуто ранее, в исследовании использовали 60 лабораторных мышей (из них 15-контрольная группа). В опытной группе 15 мышей принимали не активированный препарат, 15 мышей принимали активированный препарат с максимальной дозой лазерного облучения в разведении 1:10, в следующей группе 15 мышей принимали аналогичный активированный препарат в разведении 1:1000. Дополнительно к группе с приемом препарата в качестве контроля использовали мышей, которые не принимали препарат-7 мышей (пили чистую воду-чистый контроль), которые принимали раствор перекиси водорода 3%, разбавленный в 10 раз (донор кислорода, используемый для активации хлорофилл содержащего препарата). Прием указанных препаратов осуществляли 2 месяца. Через 2 месяца всем мышам (кроме группы с чистым контролем ввели внутрибрюшинно взвесь культуры клеток карциномы Эрлиха объемом 0.1 мл (дополнительно культуру ввели еще 10 мышам, которые не принимали никаких препаратов и пили чистую воду-второй чистый контроль). В дальнейшем проводили динамическое ежедневное наблюдение для учета результатов исследования.

Было установлено, что мыши в группе с чистым контролем были активны и живы в течении всего исследования (1 год). Мыши со вторым чистым контролем быстро увеличивались в размерах (асцит) и погибали на 4-

6 день. Мыши, принимавшие не активированный хлорофилл содержащий препарат или раствор 1:10  $\text{H}_2\text{O}_2$  3% погибали на 6-12 день. Мыши принимавшие активированный препарат в разведении 1:10 жили 21-24 дня, а при его разведении 1:1000-погибали в пределах 10 дней. Следует отметить, что мыши, которые принимали сразу только активированный препарат также погибали на 10-12 день. То есть, предварительный относительно длительный прием не активированного хлорофилл содержащего препарата до назначения его активированной формы является необходимым этапом разработанной медицинской технологии, что скорее всего связано с фото-иммунной его активностью, описанной в литературе.

Таким образом, был доказан антимикробный и анти-опухолевый эффект хлорофилл содержащего препарата, активированного вне организма. Выявленный эффект существенным образом зависел от концентрации вводимого активированного препарата, длины волны и дозы лазерной энергии, использованной для его активации. В результате, можно полагать, что способность фотосенсибилизатора накапливаться в измененных тканях, микробных клетках с реализацией эффекта летальной фотосенсибилизации пролиферирующих клеток может быть использована, по-видимому, и при лечении хронического эндометрита и сопутствующего гиперпластического изменения тканей эндометрия.

Клиническое применение и подтверждение эффективности разработанной методики представлено в клиническом разделе научной работы.

В клиническом разделе научной работы показано, что для достижения цели- повышение эффективности и качества диагностики и лечения гиперпластических процессов эндометрия у женщин с хроническим эндометритом в программах ВРТ на основе использования лазерной конверсионной экспресс-диагностики (флюоресцентная составляющая) и объемной фото-ингибирующей терапии нами были обследованы 126 женщин, которые были разделены на 2 группы, - основную (80) и группу сравнения (46),

сопоставимых по возрасту с документально подтвержденным отсутствием гиперплазии эндометрия и хронического эндометрита.

Все женщины обратились в клинику в связи с бесплодием с целью экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Как уже было отмечено в диагностике и лечении гиперпластических процессов эндометрия (ГПЭ), посвящено большое количество научных исследований. Современное состояние вопроса заключается в том, что средний возраст женщин, потенциально готовых к рождению детей существенно возрос и превышает  $32 \pm 1, 2$  года (Сухих Г. Т., 2017). Все больше женщин, прибегающих в клиники репродуктивной медицины для реализации собственной репродуктивной функции старше 35 лет. Большая доля женщин, не сумевших реализоваться с позиции материнства уже после 40 лет. А частота хронических воспалительных заболеваний и гиперпластических процессов эндометрия к этому возрасту превышает 45% (Сидорова И. С. 2016)

В результате исследования установлено, что в основной группе к этому возрасту 39, 7% женщин ранее никогда не имели беременности, а 53 (60, 2%) ранее имели беременности, но при этом роды были только у 26 (29, 5%). У остальных 62 (70, 4%) пациенток были самопроизвольные выкидыши и неразвивающиеся беременности (1-3). 76, 1% женщин обратились с единственной жалобой и проблемой – бесплодие.

В анамнезе обращает на себя внимание высокая частота необоснованных выскабливаний матки или связанных с прерыванием беременности 61 (69, 3%) или с эвакуацией неразвивающегося плодного яйца.

Абсолютное подавляющее большинство пациенток жаловались на то, что «их не берут в программу ЭКО, т. к. «не растет эндометрий». При этом некоторые женщины при ультразвуковом исследовании показывали локальное увеличенное М-эхо от 10 до 15 мм одновременно при доплерометрии у 77 пациенток (87, 5%) были выявлены нарушения

гемодинамики различной степени - в аркуатных, радиальных, базальных и спиральных артериях выявило отклонения от нормальных значений у 83 (94, 3%) обследованных.

В обсуждении активного участия микробного фактора в течении хронического эндометрита и сопутствующих гиперпластических процессов можем констатировать, что в данном исследовании рост условно патогенной флоры был обнаружен только у 20 (22, 7%) женщин. Наибольшее присутствие было у *Staphylococcus spp.*, *E. Coli*, *Enterococcus* и *Enterococcus faecalis*. У этих же пациенток были идентифицированы цитологические изменения клеток экто- и эндоцервикса, присущие дисплазии I и II степени воспалительного генеза.

Несомненно, что гистероскопия является одним из приоритетных и высоко информативных методов диагностики патологических процессов эндометрия как воспалительного, так и гиперпластического происхождения. В нашем исследовании при минигистероскопическом исследовании очевидные признаки гиперплазии – полипы, очаговые фокусы гиперплазии были выявлены только у 34 (38, 6%) пациенток. У всех остальных была картина неравномерно утолщенного эндометрия при средней его гипотрофии, одиночные и мультифокусные очаги гиперваскуляризации и ультра-мелкие сосочковые выросты. У подавляющего большинства женщин – 57 (64, 8%)- имели место признаки хронического эндометрита - очаговые и диффузные крупно- и мелкоочаговые геморрагии а также фиброзные изменения и синехии как в цервикальном канале, так и в полости матки.

В качестве подтверждения (мы считаем, что предварительный диагноз патологии эндометрия должен быть установлен эндоскопическим методом, а морфологическое исследование должно подтвердить эндоскопический диагноз) в результате патоморфологического исследования у 45 (50, 1%) женщин имелся морфологически верифицированный диагноз: хронический эндометрит, у 43 гиперплазия эндометрия и у 17 (25, 0%) - признаки гормональной дисфункции и один из вариантов гиперплазии эндометрия.

Иммуногистохимическое исследование было выполнено у 21 пациентки с целью идентификации влияния фото-иммунной терапии на рецептивность эндометрия при хроническом воспалении и гиперпластических процессах, которые хорошо известны.

Так, выполненное исследование показало, что у всех женщин были явные признаки нарушения рецептивности эндометрия как в I, так и во II фазу менструального цикла, а именно снижение коэффициента Pg/ER до 1, 2-1, 6 при норме 2-4, снижение экспрессии LIF на 50-60 %, повышение CD 56 в 1, 5 раза, что свидетельствовало об увеличении NK-клеток в строме эндометрия. При этом у 12 (57, 1%) пациенток имело место снижение экспрессии как ER $\alpha$ , так и PR рецепторов, а у 9 (42, 9%) женщин только PR. Установлено, что средний уровень экспрессии ER- $\alpha$  в эпителии желез у женщин с ПГЭ на фоне хронического эндометрита составил 6, 0 $\pm$ 0, 7 балла Allred Score и был ниже, чем в контрольной группе, средний уровень PR в эпителии желез составил 5, 1 $\pm$ 0, 9 балла Allred Score ( $p < 0, 05$ ). У женщин со сложной гиперплазией эндометрия (СГЭ) на фоне хронического эндометрита уровень экспрессии ER $\alpha$  в эпителии желез составил 7, 3 $\pm$ 0, 8 балла, а уровень PR - 6, 7 $\pm$ 1, 8 балла Allred Score, что также отличалось от показателей группы сравнения. Кроме того, отмечено, что у 18 из 21 (85, 71%) женщин имело место неравномерное распределение ER- $\alpha$  и/ или PR. Определялись зоны с резким обеднением рецепторного аппарата ER- $\alpha$  как при ПГЭ, так и при СГЭ на фоне ХЭ. Количество пиноподий было 25-30%.

Таким образом, стало очевидным, что ведущим в нарушении рецептивности эндометрия у женщин с гиперплазией эндометрия на фоне хронического эндометрита было преимущественное снижение коэффициента рецептивности за счет повышения экспрессии рецепторов к ER при снижении экспрессии PgR и LIF на 40-50% и превышении клона CD56 –позитивных лимфоцитов в 1, 5 раза. И это являлось важным фактором отсутствием наступления беременности в процессе многократных попыток переносов эмбрионов в стимулированных и естественных циклах.

Как ранее отмечалось, основным методом экспресс-диагностики и мониторинга динамики и эффективности лечения была лазерная флюоресцентная спектроскопия, а методом лечения – объемная фотоингибирующая в сочетании с фото-иммунной терапией и внутриматочное лазерное облучение эндометрия в дозе 2 Дж. Именно эта технология позволяла контролировать динамику лечебного процесса и подготовленность эндометрия к переносу эмбриона.

Отсутствие объективного контроля полноценности структурно-функциональной готовности эндометрия к имплантации (синоним определения «окна имплантации») не может быть достоверным фактором определения времени переноса эмбриона для наступления беременности.

В процессе исследования отправной точкой считали определение показателей флюоресценции нормально функционирующего эндометрия (метаболических - аэробность и её структурированность, морфометрических-пролиферативная активность клеток эндометрия и структурированность тканей эндометрия, функциональных - соответствие исследуемых показателей дню цикла).

Следует отметить, что аэробность (оксигенация) нормального эндометрия неоднозначна в течение нормального (овуляторного) цикла. Она меняется (увеличивается) в пролиферативную фазу, не снижается в фазу секреции и снижается перед менструацией. Аналогичная ситуация и с пролиферацией. При отсутствии овуляции оксигенация снижена, равно как и пролиферативная активность и микроциркуляция.

Определена флюоресценция нормального эндометрия (пролиферативная активность).

У женщин с хроническим эндометритом до лечения флюоресценция эндометрия была снижена в значительной степени и зависела от выраженности воспалительного процесса, составив  $5-8 \times 10^{5-6}$  отн. Ед. В случае сочетанной патологии – гиперплазии эндометрия и хронического эндометрита - выявлялись локальные признаки повышенной пролиферативной активности

эндометрия на фоне умеренно- и выраженного снижения аэробности пролиферативной активности тканей эндометрия, нарушение метаболической и морфометрической структурированности тканей эндометрия.

Полученные при ЛКД данные (флюоресцентная составляющая) показали, что проявления ГЭ эндометрия характеризуются увеличением интенсивности сигнала флюоресценции в 2-10 раз в различных её отделах (дно, середина, внутренний зев), некоторым сдвигом сигнала пика флюоресценции на 5-10 нм вправо (у 25-30% пациентов), нарушением спектральной структурированности (метаболической и морфометрической) практически у всех пациенток. Это сопровождалось высокой пролиферативной активностью клеток эпителия. При этом показатели аэробности и микроциркуляции в эндометрии были снижены практически во всех отделах матки на 25-55%. В процессе реабилитационных мероприятий все представленные показатели практически нормализовались.

Таким образом, представленная лазерная конверсионная диагностика (флюоресцентная составляющая), которую использовали в качестве оптической биопсии (метаболической, морфометрической и функциональной) для объективной оценки процесса реабилитации пациенток, показала себя как объективная реально быстро выполняемая неинвазивная диагностика патологических состояний эндометрия.

Объемная фото-ингибирующая и фото-иммуностимулирующая терапия гиперпластических процессов эндометрия, как изолированных, так и в сочетании с хроническим эндометритом, является альтернативным эффективным методом негормонального лечения и методом восстановления структурно-функционального состояния эндометрия, способного обеспечить имплантацию и способствовать развитию беременности на всех этапах. Утверждающим фактором соответствия истине являются традиционные методы диагностики –УЗИ, доплерометрия и др.

Так, ультразвукография показала соответствие эхографической картины эндометрия фазе менструального цикла у 69 (78, 4%) женщин. Особого

внимания заслуживают изменения в сосудистом русле матки, обнаруженные при доплерометрическом исследовании.

Следует отметить, что максимальные изменения показателей кровотоков были зафиксированы на уровне радиальных артерий. У (84, 4%) отмечено возвращение показателей к нормальным значениям (так средний показатель индекса резистентности IR изменился от 0, 94 до 0, 68).

Сосудистый статус рассматривался как показатель эффективности проводимой терапии и фактор прогноза последующей успешной имплантации.

Эндоскопическим контролем служила (офисная) минигистероскопия, выполненная на 5-7 день менструального цикла. Получены следующие результаты: признаки гиперплазии не обнаружены ни у одной пациентки.

В результате морфологического исследования признаки гиперплазии эндометрия также не выявлены ни у одной пациентки. В I фазе цикла признаки ранней и средней пролиферации без лимфоцитарной инфильтрации были у 72 (81, 8%) женщин, у остальных имелись нерезко выраженные признаки хронического воспаления – преимущественно слабо выраженная очаговая лимфоцитарная инфильтрация стромы.

Иммуногистохимическое исследование показало увеличение PgR в клетках эндометрия до 92% у 71, 4% и ER – до 88 % у 28, 6% пациенток, что соответствовало 8-9 и 7-8 баллам (Allred Score), восстановление LIF до 7-9 баллов, CD 56 до 8-10 у 66, 7% женщин и CD 138 – 0 в поле зрения у 76, 2% пациенток.

#### Результаты лазерной флюоресцентной конверсионной спектрометрии:

После фото-ингибирующей терапии спектральная интенсивность всех отделов матки нормализовались и практически совпадали по интенсивности, т. е. были структурированы. После лечения показатели метаболизма, пролиферации и микроциркуляции вернулись к норме у 86, 4% женщин, стали лучше у 18, 6%.

Таким образом, использование лазерной конверсионной экспресс-диагностики и объемной фото-активной (комплексной фотодинамической и фото-иммунной) терапии позволило восстановить морфо-функциональное состояние эндометрия, что выразалось в нормализации процессов пролиферации, в повышении уровней микроциркуляции, оксигенации и метаболизма и их структурированности, и функциональности. Восстановление рецепторного аппарата эндометрия и гемодинамики в виде нормализации показателей кровотока на уровне радиальных артерий может также рассматриваться как показатель эффективности лечения и является прогностическим признаком успешной имплантации. Представленные клинические результаты соответствуют цели и задачам научного исследования, что, в итоге, позволило объективно и адекватно сформулировать выводы и практические рекомендации научно-клинической работы.

## **ВЫВОДЫ**

1. Разработана новая комплексная лечебно-диагностическая медицинская технология, основанная на применении лазерной конверсионной экспресс-диагностике (флюоресцентная составляющая ) и объемной , активированной вне организма фотодинамической терапии гиперпластических процессов эндометрия с использованием безопасных хлорофилл содержащих препаратов.
2. Разработанная методика позволяет объективно выявлять нарушение структурно- функциональных характеристик эндометрия при гиперпластических и воспалительных процессах (клеточная пролиферация, оксигенация тканей, нарушение структурированности и их морфо-метаболических характеристик) и их восстановление при использовании объемной фото-иммунной терапии.

3. Установлены особенности клинической картины гиперплазии эндометрия и гиперплазии в сочетании с хроническим эндометритом у женщин старшего репродуктивного возраста. Это – отсутствие клинических проявлений и меноррагии, несоответствие эхографической картины гистероскопической. Объективным критерием состоятельности эндометрия при бесплодии и подготовки к ВРТ является гистероскопия и лазерная конверсионная диагностика.

4. Информативными показателями нормального эндометрия являются: пролиферативная активность клеток, аэробность (оксигенация), интенсивность микроциркуляции, структурированность. Флюоресценция нормального эндометрия (пролиферативная активность) составила  $6-8 \times 10^7-10^8$  отн. ед. (ОЕ). Индекс аэробности - 1,3-1,7 ( $1,58 \pm 0,08$ ) ОЕ. Интенсивность микроциркуляции - 1,41-1,54 ( $1,47 \pm 0,07$ ). Структурированность тканей эндометрия в норме была выражена и составила 1,5-2,0 ОЕ. При хроническом эндометрите индекс аэробности составил 0,7-1,1 ( $0,9 \pm 0,1$ ), интенсивность микроциркуляции 1,0-1,2 ( $1,1 \pm 0,04$ ), структурированность отсутствовала.

5. Показатели лазерной конверсионной диагностики при гиперплазии эндометрия характеризуются увеличением интенсивности флюоресценции в 2-10 раз в разных отделах эндометрия со сдвигом ее пика (у 30% пациенток) на 5-10 нм. При этом показатели аэробности во всех отделах полости матки были снижены на 25-65%.

6. Клиническая эффективность лечения гиперплазии эндометрия методом объемной фото-иммунной терапии составила 86,7% и выражалась в нормализации в эндометрии пролиферации, микроциркуляции, оксигенации и уровня метаболизма. При ЛКД эти показатели вернулись к норме у 66,7% женщин, улучшились у 28,2%, незначительные изменения отмечены у 5,1% пациенток.

Индекс аэробности у женщин с хроническим эндометритом и гиперплазией после ФДТ составил 1.1-1.7 ( $1,56 \pm 0,05$ ) ОЕ, микроциркуляция поверхностных слоев эндометрия  $1,58 \pm 0,03$  ОЕ.

7. Объемная фото-иммунная терапия способствовала восстановлению кровоснабжения в сосудах матки у 84,4% женщин (верифицировано доплерометрией), и улучшению рецептивности эндометрия у 69,1 % пациенток.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Показанием для лазерной конверсионной диагностики является подозрение на гиперпластический процесс эндометрия как при наличии клинических признаков проявления, так и без них, при наличии УЗИ критериев. ЛКД является методом выбора для экспресс-диагностики хронического эндометрита и гиперплазии эндометрия у женщин с бесплодием как в условиях ВРТ, так и без его применения.

2 Лазерную конверсионную диагностику целесообразно производить в пределах I и II фазы одного менструального цикла. Условием для диагностики является отсутствие менструального и межменструального кровотечения, гарантия отсутствия беременности.

3. Показанием для лазерной фото-иммунной терапии является гиперплазия эндометрия, хронический эндометрит, (в изолированном варианте или в сочетании), в том числе как в условиях проведенной ранее гормональной терапии и при ее неэффективности, так и при наличии противопоказаний к таковой.

4. Критерием назначения ФДТ являются снижение параметров оксигенации, пролиферации и микроциркуляции в поверхностных слоях эндометрия на 10-25%

5. Оптимальной продолжительностью перорального приема хлорофилл содержащих препаратов до начала ФИТ можно считать 12-14 дней, что определяется лазерной спектроскопией повышением уровня оксигенации на 5-10%

6. Оптимальными параметрами внутриматочного облучения эндометрия при ГЭ следует считать 2 Дж, время облучения 2 мин. При изолированной форме хронического эндометрита 80-120 Мдж в течение 3 мин. При сочетанных вариантах – последовательно 2 Дж и 120 Мдж/ 2-4 мин. Интервал между сеансами 3-6 дней.

7. Контроль за эффективностью лечения следует проводить не ранее 4-6 недель после окончания ФИТ

8. Сочетанную локальную и объемную ФИТ следует проводить у женщин с бесплодием в программах ВРТ (так и без них) в случаях с рецидивирующим течением и при неэффективности ранее проведенного консервативного гормонального или иного лечения.

### Список условных обозначений

ВРТ	-вспомогательные	репродуктивные	технологии
ВПГ	-вирус простого герпеса		
ГЭ	-	гиперплазия	эндометрия
ПЭ-		полип	эндометрия
ГРЭ	-гормональная регрессия эндометрия		
ГПЭ	-	гиперпластические	процессы эндометрия
ЛКД	- лазерная конверсионная диагностика		
ПОЛ-	перекисленное окисление липидов		

РФТ	–	раман-флюоресцентные	технологии
УЗИ	-	ультразвуковое	исследование
ФИТ		-фото-иммунная	терапия
ФДТ- фотодинамическая терапия			
ФИГТ-фото-ингибирующая терапия			
ХЭ- хронический эндометрит			
ЭКО		-экстракорпоральное	оплодотворение

### Список использованной литературы

1. А.В. Наумик спектроскопия комбинационного рассеяния света в микробиологической диагностике: достижения, преимущества, перспективы. журн. Микробиол., 2013, № 4, с. 100 — 110
2. Аблицов А.Ю. Лазерная аутофлюоресцентная спектроскопия в дифференциальной диагностике периферических образований лёгких // Дисс. канд. мед. наук, М., 2003
3. Абу Салех Самир Прогнозирование и профилактика доброкачественных дисплазий молочных желез у женщин с гинекологическими заболеваниями. // Автореф. дисс... к.м.н. — М. 2004. – 24 с.
4. Адамян Л.В., Гаврилова Т.Ю., Сонова М.М., Яроцкая Е.Л. Миома матки: современные хирургические и альтернативные технологии в лечении. // Здравоохранение и медицинские технологии. -2008 -№1. С 30-33
5. Адамян Л.В., Гусаева Х.З., Гаврилова Т.Ю., Гречихина Н.Ф., Селиверстов А.А. Сочетанные доброкачественные заболевания эндо- и миометрия у женщин репродуктивного возраста. // Современные технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний: материалы международного конгресса. — М., 2007, — с. 162-163

6. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Мурватов К.Д., Макаренко В.Н. Спиральная компьютерная томография в гинекологии: атлас// М., Медицина, 2001, - 288 с.
7. Адамян Л.В., Мурватов К.Д. Современные методы визуализации в гинекологии // В кн.: Международный конгресс по эндометриозу с курсом эндоскопии, М., 1996, - с. 195-215
8. Александров М.Т. Лазерная клиническая биофотометрия (теория, эксперимент, практика) – М.: Техносфера, 2008. - 584 с.
9. Ашрафян Л.А., Киселев В.И. Опухоли репродуктивных опухолей (этиология и патогенез). М.: Изд-во Димитрейд График Групп, 2007. — 216 с., ил. 28
10. Байлюк Е.Н. Клинико-морфологические особенности пролиферативных процессов в молочной железе у больных миомой матки: Автореф. дис. ... к.м.н., С-ПБ., 2008
11. Баранов В.Н. Хронические воспалительные заболевания матки и придатков и их отдаленные последствия: особенности патогенеза, клинико-морфологическая характеристика, лечение и медицинская реабилитация: автореф. дис. ... д.м.н.: Челябинск, 2002. — 48 с.
12. Бокарев И.Н., Попова Л.В. Венозный тромбоэмболизм и тромбоэмболия легочной артерии. — М.: МИА, 2005. — 208 с.
13. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии // С.-Петербург: Фолиант, 2002, - с. 195-215
14. Бохман Я.В., Волкова А.Т., Чепик О.Ф. и соавт. Возможности управлением состоянием эндометрия при самостоятельном гормональном лечении атипической гиперплазии и рака тела матки у женщин молодого возраста. // Факторы риска гиперпластических процессов репродуктивной системы женщины. Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума у пленума Проблемной комиссии «Охрана здоровья женщин вне беременности». Рига. — МЗ. Лавт. ССР —1985. С. 15-16

15. Бреусенко В.Г., Савельева Г.М., Голова Ю.А., Мишиева О.И. Лечение гиперпластических процессов эндометрия в постменопаузе. // Акуш, и гин. – 2009. -№4. — С. 19-23
16. Вакуловская Е.Г. Фотодинамическая терапия и флюоресцентная диагностика опухолей Автореферат диссертации на соискание учёной степени доктора медицинских наук- Москва 2006
17. Венедиктова М.Г., Доброхотова Ю.Э., Задонская Ю.Н. Современные аспекты патогенетически обоснованной фармакологической коррекции гиперпластических процессов в эндометрии // Российский вестник Акушера-гинеколога. №1, 2008.
18. Гаврилова Л.В. Состояние и пути решения проблем охраны репродуктивного здоровья женщин в современных условиях // Здравоохранение.
19. Гинекология от пубертата до постменопаузы практическое руководство для врачей // Под ред.акад. РАМН, проф. Э.К. Айламазяна. –М. МЕДпрессинформ, 2004. -448 с.
20. Гусаева Х.З., Адамян Л.В., Волобуев А.И. и соавт. Магнитно-резонансная томография при сочетанной доброкачественной патологии эндо- и миометрия // Современные технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний: материалы международного конгресса. — М., 2007. –С. 136-137
21. Давыдов А.И., Белоцерковцева Л.Д., Панкратов В.В. Гиперпластические процессы эндометрия в сб. Клинические лекции по акушерству и гинекологии. Под. ред. Стрижакова А.Н., Давыдова А.И., Белоцерковцевой Л.Д. — М., Медицина, 2000. — С. 215-230
22. Дадвани С.А., Кузин М.И., Харнас С.С., и др. Спектрально-флюоресцентный анализ ALA-индуцированного протопорфирина IX в дифференциальной диагностике заболеваний желудка // Хирургия, 2000, - №11, с. 11-14

23. Дамиров М.М. Гиперпластические процессы в матке: роль фосфоинозитидов в патогенезе, диагностике и оценке результатов лечения: Автореферат дисс. д.м.н. — СПб., 2000. — 29 с.
24. Дедов И.И., Андреева Е.Н. Гиперплазия эндометрия: патогенез, диагностика, клиника, лечение. // Методическое пособие для врачей. Москва, 2001. -32 с.
25. Завалко А.Ф. Использование «Мирены» в лечении рецидивирующих гиперпластических процессов эндометрия // Тезисы международного конгресса «Практическая гинекология: от новых возможностей к новой стратегии». – Москва, 2006. — С. 64-65
26. Зуев В.М., Александров М.Т., Калинина Е.А., Кукушкин В.И., Ищенко А.И. Джибладзе Т.А. «Прегравидарная подготовка: современные аспекты и новые технологии диагностики и лечения на основе лазерной рамановской спектроскопии и фото-иммунной терапии.» // Ж. «Гинекология», 2014. №5, т.16, сс..67-72.
27. И.А. Шугайлов, А.Р. Джанчатова, А.А. Максименко. Оценка эффективности фотодинамической терапии с новым фотосенсибилизатором «Рада Дент плюс» при лечении воспалительных стоматологических заболеваний// Российский стоматологический журнал- 2013-№2- С.38-42.
28. Илизарова Н.А. — Первичное невынашивание беременности: патоморфологический анализ эндометрия, клинические особенности и основные стратегии терапии. // Автореф. Дисс. ... Новосибирск. —2009. — 47с.
29. Каппушева Л.М., Комарова С.В., Ибрагимова З.А., Коган О.М. Выбор метода терапии гиперплазии эндометрия в перименопаузе. // Акуш. и гин. 2005. -№ 6. — С. 37-42
30. Киселев В.И. Сидорова И.С., Унанян А.Л., Муйжнек Е.Л. Гиперпластические процессы органов женской репродуктивной системы: теория и практика. М.:Медпрактика-М, 2011

31. Киселев Г.Л., Лощенов В.Б. Распространение лазерного излучения в биологической ткани при фотодинамической терапии и диагностике // Российский химический журнал, 1998, - т. XLII, №5, с. 53-62
32. Коган Е.А., Сидорова И.С., Низяева Н.В., Демура Т.А., Ежова Л.С., Унанян А.Л. Клинико-морфологические и молекулярно-биологические особенности аденомиоза при сочетании его с аденокарциномой эндометрия. // Акуш. и гин. — 2011. -№7-2. — С. 46-50
33. Козаченко В.П. Рак шейки матки // Современная онкология, 2000, т. 2, №2, - с. 40-44
34. Кондриков Н.И., Асатурова А.В., Могиревская О.А., Барина И.В. и др. Воспроизводимость диагнозов гиперплазия эндометрия по классификации ВОЗ и по модифицированной (бинарной) классификации. // Акуш. и гин. — 2011. -№3. —С. 42-46
35. Коновалова В.Н. Леонова Н.Ю., Сметник В.П., Киселев В.И. Взаимосвязь динамики состояния молочных желез и гидроксиметаболитов эстрогенов в моче у женщин в постменопаузе на фоне различных режимов заместительной гормональной терапии. // Росс. вестн. акуш-гин. 2007. -№6
36. Кудашев В.Б. Применение метода флюоресцентной диагностики для повышения радикализма трансуретальной резекции мочевого пузыря // Дисс. канд. мед. наук, М., 2001
37. Кузин М.И., Кузин Н.М., Шкроб О.С., Харнас С.С. и соавт. Спектроскопическая диагностика заболеваний желудка на основе флюоресценции эндогенных порфиринов, индуцированной лазером // Хирургия, 1995, 5, - с. 35-37
38. Кузнецов В.В., Мехтиев В.Н., Коржевская Е.В. и др. Рак вульвы: факторы прогноза, лечение // Современная онкология, 2000, т.2, №2, - с. 37-39

39. Кузнецова И.В. Якокутова М.В. Комплексный подход к терапии женщин с гиперпластическими процессами эндометрия и ожирением // Акуш. и гин. -2007. –С. 59-63
40. Кулаков В.И., Адамян Л.В., Мурватов К.Д. Магнитно-резонансная томография в гинекологии // М.: Антидор, 1999, 192 с.
41. Кулаков В.И., Адамян Л.В., Мынбаев О.А. Оперативная гинекология – хирургические энергии: руководство// М.: Медицина, Антидор, 2000, - с. 408-428
42. Л.В. Ткаченко, Н.И. Свиридова. Двухэтапный метод лечения хронического эндометрита у женщин с гиперпластическими процессами эндометрия в перименопаузе. Гинекология. 2016; 01:40-44
43. Линьков К.Г. Лазерно-флюоресцентные методы и аппаратура диагностики и контроля состояний биологических тканей// Авторев. дисс. канд. тех. наук, М., 1999, 24 с.
44. Марченко Л.А., Нисневич И.Ф. Этиологическая структура хронических эндометритов. // Докл. I Интернац. Конгресса по инфекц. Заболеваниям в акушерстве и гинекологии. Италия, 1992. –с. 125-1260
45. Матвеев Б.П., Кудашев Б.В., Бухаркин Б.В., Романов В.А., Рубанов Ю.В. Роль флюоресцентного контроля в повышении радикализма оперативного лечения поверхностного рака мочевого пузыря // Урология, 2000, №3, - с. 37-39
46. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем (акушерство, гинекология перинатология). Десятый пересмотр. ВОЗ. Женева. -2005. -268 с.
47. Мерзляков А.П. Лазерная спектроскопическая диагностика хирургических заболеваний желудка // Дисс. канд. мед. наук, М., 1995
48. Милованов А.П., Болтовская М.Н. и др. — Неразвивающаяся беременность: гистологические и иммуногистохимические маркеры эндокринных нарушений в соскобах эндометрия. — Арх. патол. — 2008. —№6. — с. 22-25.

49. Милованов А.П., Долженко Т.А. — Морфологическая диагностика и патогенез неразвивающейся беременности при антифосфолипидном синдроме. — *Арх. патол.* — 2005. — №1. — с. 36-39
50. Милованов А.П., Кириченко А.К. — Цитотрофобластическая инвазия — ключевой механизм развития нормальной и осложненной беременности. — Красноярск. — 2009. — Литера-принт. — 188с.
51. Милованов А.П., Радзинский В.Е. и др. — Роль микроокружения в жизнеобеспечении эмбриона человека. — *Акуш. гинекол.* — 2004. — №4, с. 15-18
52. Милованов А.П., Серов О.Ф. Причины и дифференцированное лечение раннего невынашивания беременности (Руководство для врачей)
53. Милованов А.П., Фокина Т.В. и др. — Децидуализация эндометрия как фактор, регулирующий цитотрофобластическую инвазию в течение I триместра беременности. — *Арх. патол.* — 2007. — №5. — с. 36-39.
54. Н.Е. Васильев А.П. Огиренко. Антимикробная фотодинамическая терапия Лазерная медицина, 2002. №6(1) с.32-38.,
55. Нефф Е.И. Оценка эффективности различных методов термоабляции для лечения гиперпластических процессов эндометрия. // Автореф. дисс. ... к.м.н. — М., 2008. — 24 с.
56. Новикова Е.Г., Чулкова О.Г., Пронин С.М. Лечение атипичской гиперплазии эндометрия. // *Практическая онкология.* -2004. —Т. 5. №1. — С.52-59
57. Ншанян С.Ю. Диагностика и лечение патологических состояний эндометрия у женщин с бесплодием. Дисс. ... к.м.н. — М., 2004. -144 с.
58. О.Н. Рисованная, С.И. Рисованный, Д.А. Доменюк. Антибактериальное воздействие фотодинамическое терапии на

- патогенную микрофлору полости рта// Кубанский научный медицинский вестник -2013- №6-С.155-158
59. Общая патология человека. Руководство для врачей / Под редакцией ред. А.И. Струкова, В.В. Серова, Д.С Сарикова: в 2 т. — 2е изд., перераб. и до, — АМН СССР — М.: Медицина, 1990, — 416 с.
60. Ольховская М.А., Сметник А.А. Селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов. // Акуш и гин. — 2011. -№6. — С. 31-35
61. Опухоли женской репродуктивной системы. / Под ред. М.И. Давыдова, В.П. Летягина, В.В. Кузнецова. — М.: ООО «Медицинское информационное агенство». -2007. -375с.:табл.
62. Охотникова Н.Л. Дифференциальная диагностика хирургических заболеваний желудка с использованием аутофлюоресценции и аласенс-индуцированной флюоресценции // Дисс. канд. мед. наук, М., 2001
63. Панкратов В.В. Цветное доплеровское картирование и эндохирургические технологии в диагностике и лечении гиперпластических процессов эндометрия у женщин репродуктивного возраста : Автореферат дисс... к.м.н. — М., 2001, — 29с.
64. Пат. 2345803 Способ фотоиммунотерапии фотосенсибилизатором, активируемым волновой энергией вне организма человека / Залевский И.Д., Гончаров С.Е., Васильев Н.Е., Решетников А.В. культура- 2014- С.42-47.
65. Пашков В.М. Дифференцированный подход к диагностике и хирургическому лечению женщин с доброкачественными заболеваниями матки: Автореферат дисс... к.м.н. — М., 2004, -48с.
66. Петерсен Э.Э. Инфекции в акушерстве и гинекологии. Пер. с англ.: Под общ. ред. В.Н. Прилепской. — М.: МЕДпресс-информ, 2007. — 352с.: ил.
67. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань , 2004, — 451с.

68. Побединский Н.М., Балтуцкая О.И., Омельяненко А.И. Стероидные рецепторы нормального эндометрия. // Акуш. и гин. — 2000. -№3, — С. 5-8
69. Польшкин В.В., Каплан М.А., Медведев В.С. и др. Фотодинамическая терапия при комплексном лечении рака слизистой оболочки полости рта// Радиация и риск -2011- Том 20- №1 – С.41-49
70. Прилепская В.Н. Межевитинова Е.А., Гогаева Е.В. Ожирение, метаболический синдром и нарушения репродуктивной функции. // Тезисы докладов сателлитного симпозиума «Метаболический синдром» IX Российского национального конгресса «Человек и лекарство».
71. Пронин С.В., Новикова Е.Г. Абляция эндометрия — новый подход к лечению предрака и начального рака эндометрия. // Новые технологии в гинекологии Сб. научных трудов. — Пантори. Москва, 2003, — С. 162.
72. Пушкарёв В.А., Кулавский В.А., Викторова Т.В. и др. Генетические аспекты рака эндометрия. // Опухоли женской репродуктивной системы: ежеквартальный научно-практический журнал. 2009. -№1/2. — С. 72-75
73. Радзинский В.Е., Итекс А.В., Ордянец И.М. и соавт. Генетические детерминанты гиперпластических заболеваний репродуктивной системы. // Журнал акушерства и женских болезней. Выпуск 3, Т.LI, 2002. —С. 25-27
74. Радзинский В.Е., Ордянец И.М., Хасанова Л.Х., Токтар Л.Р., Зубкин В.И. Молочные железы и гинекологические болезни. // Под ред. В.Е. Радзинского. —М., 2010. -304 с., илл.
75. Радзинский В.Е., Семятов С.Д. — Репродуктивное здоровье женщин Московского мегаполиса. — Вест. РУДН. — 2005. — №4 (32) — с. 188-198.
76. Ранние сроки беременности. — Под ред. В.Е. Радзинского, А.А. Оразмурадова. — Изд. Второе. — М, «Status Praesens» — 2009. — 480 с.

77. Рыбин В.К. Дифференциальная диагностика хирургических заболеваний легких с помощью флюоресцентной спектроскопии // Дисс. канд. мед. наук, М., 1993
78. Савельева Г.И., Серов В.Н. Предрак эндометрия. — М.: Медицина, 1980. — 167 с.
79. Савельева Г.М. Итоги и перспективы развития отечественной эндоскопии в гинекологии // Акушерство и гинекология, — 1996, -№5, — С. 3-5
80. Савельева Г.М., Бреусенко В.Г., Каппушева Л.М., Постменопауза. Физиология и патология. // Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. — 1998, - №2, — С. 45-49
81. Савицкий Г.А., Волков Н.Н. Мини-лапаротомия в современной гинекологической практике // Акуш. и гинек. —2000, -№2, — С. 3-5
82. Самотья Е.Е., Клинико-морфологические особенности гиперпластических процессов эндометрия // Автореф. дис... канд. мед. наук — Л., 1980. — С. 20
83. Саркисов С.Э. Гистероскопическая эндохирургия матки // Автореф. дис... докт. мед. наук — М., 1999, — С. 37
84. Саркисов С.Э., Кузнецов Р.Э. Первый опыт применения внутриматочной эхографии // Ультразвуковая диагностика. — 1998. - №3, — С. 33-35
85. Сепиашвили Ш.И. Клинико-морфологические особенности полипов эндометрия и их роль в развитии рака // Автореф. дис... докт. мед. наук — М., 1981. — С. 37
86. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) — М.: Медицина, 1981, 312с.
87. Серов В.Н. Гиперпластические процессы и предрак эндометрия. // Акушерство и гинекология – 1987 - №3;
88. Серова О.Ф., Милованов А.П. и др. — Эндометриальные белки как критерий морфологической полноценности эндометрия у женщин с

- невынашиванием беременности в анамнезе. — Вестн. акуш. гинекол. — 2003. — №3. — с. 10-15
89. Сидельникова В.М. — Привычная потеря беременности. — М. — «Триада-Х». — 2002. — 304 с.
90. Сидельникова В.М. — Эндокринология беременности в норме и при патологиях. — М. Мед. пресс. информ. — 2007. — 352 с.
91. Сидорова И.С., Пиддубный М.И., Хасанова Л.Х. Состояние молочных желез у больных с гиперпластическими процессами эндометрия. // Проблемы пери- и постменопаузального периода. — М., 1996. — С. 71-72
92. Сидорова И.С., Шешукова Н.А., Федотова А.С. Современный взгляд на проблему гиперпластических процессов в эндометрии. // Российский вестник акушера-гинеколога №5, 2008 С. 19-22.
93. Сичинава Л.Г., Каппушева Л.М., Азиев О.В., и др. Контрастная трансвагинальная эхография в диагностике внутриматочной патологии // Эндоскопия в диагностике и лечении и патологии матки // Под ред. Кулакова В.И., Адамян Л.В., — М., 1997, — Т. 1. — С. 105
94. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология. — М., МИА, 1999. — С. 591
95. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология. / Руководство для врачей. — СПб СОТИС, 1995 г. — 224 с, ил.
96. Соколов В.В., Жаркова Н.Н., Фабелинский В.Н., и соавт. Диагностика злокачественных опухолей на основе феноменов эндогенной и экзогенной флюоресценции // Современные аспекты онкологии, М., 1999, - с. 61-74
97. Сонова М.М. Клинико-морфологические, молекулярно-биологические и лечебные факторы генитального эндометриоза. // Автореф. дисс. ...д.м.н. — М., 2009. 50с.
98. Станоевич И.В. Дифференцированный подход к диагностике и лечению гиперплазии эндометрия у женщин позднего репродуктивного

- и перименопаузального возраста // Автореф. дисс. ...д.м.н. — Москва. — 2007. — 24с.
99. Странадко Е.Ф. Механизмы действия фотодинамической терапии // Российский онкологический журнал, 2000, - №4, - с. 52-56
100. Стратонников А.А. Лощенов В.Б., Дуплик А.Ю., Конов В.И. Контроль за степенью оксигенации гемоглобина в тканях и крови при фотодинамической терапии // Российский хирургический журнал, 1998, -т. XLII, - с. 63-67
101. Стрижаков А.Н., Давыдов А.И. Гистерорезектоскопия, М., 1997, 180 с.
102. Стрижаков А.Н., Давыдов А.И. Гистероскопия в диагностике и лечении гиперпластических процессов в эндометрии // Лапароскопия и гистероскопия в диагностике и лечении гинекологических заболеваний. — М., 1998. — С. 105-107
103. Стрижаков А.Н., Давыдов А.И. Клиническая трансвагинальная эхография — М., «Меджицина», 1997
104. Стрижаков А.Н., Игнатко И.В. — Потеря беременности. — М. — «Медиц. информ. агенство». — 2007. — 224 с.
105. Струков А.И., Серов В.В. Паталогическая анатомия. // Учебник для мед. ВУЗов. — Москва: Медицина. -1991, -507с.
106. Сухих Г.Т., Серов В.Н., Дементьева М.М., Колобова Е.А. и соавт. Активность  $Ca^{2+}$ / $Mg^{2+}$  - зависимой эндонуклеазы как биологического маркера апоптоза при гиперпластических процессах и раке эндометрия // 2000, №1. — С. 41-45
107. Сухих Г.Т., Чернуха Г.Е., Сметник В.П., Жданов А.В. и соавт. Пролиферативная активность и апоптоз в гиперплазированном эндометрии. // Акуш. и гин., 2005. №5. — С. 25-29
108. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит: руководство. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 64с.: ил. — (Библиотека врача-специалиста)

109. Табакман Ю.Ю. Рак эндометрия: руководство для врачей. —М.: Практическая медицина, 2009. — 172с.: ил.
110. Табакман Ю.Ю., Саидорва Р.А. Гиперпластические процессы эндометрия в постменорпаузе // Материалы 4-го российского форума «Мать и дитя». — М., 2002, — С. 382
111. Тетруашвили Н.К. — Ранние потери беременности (иммунологические аспекты, пути профилактики и терапии). — Автореф. докт. дисс. — М — 2008 — 42 с.
112. Тимошенко Я.Г., Полищук Л.З. и др. Морфометрическое исследование и математическая оценка гетерогенностей некоторых показателей при гиперпластических процессах и раке эндометрия // Автоматизация цитологических исследований. — Киев, 1990. — С. 123-127
113. Тихомиров А.Л. Манухин И.Б., Савельева Г.М. Гинекология. Национальное руководство ГЭОТАР, Москва, 2007, 600 с.
114. Тихомиров А.Л. Рациональное лечение доброкачественных новообразований гиперплазии матки. Научно-практическая монография, Москва, 2007, 23 с.
115. Топчиева О.И., Пряшникова В.А., Жемкова З.П. Биопсия эндометрия. М., «Медицина», 1978, 232с, ил.
116. Туляганова Т.Е., Мордухович В.И. и др. Гистероскопия в диагностике полипоза эндометрия // Актуальные вопросы акушерства и гинекологии — Ташкент, 1991. — С. 81-83
117. Уварова Е.В. Сочетанная доброкачественная патология эндо- и миометрия у больных репродуктивного возраста. // автореф. дисс. ... д.м.н. —М. -1993, -46с.
118. Унанян А.Л. Эндометриоз тела матки и яичников: новые аспекты патогенеза, клиники и лечения. // Автореф. дисс. ... д.м.н. — Москва. — 2007. -50с.

119. Успенский Л.В., Дадвани С.А., Кузин М.И. и соавт. Низкоэнергетический лазер в диагностике и лечении центрального рака легкого // Фотодинамическая терапия, Материалы III Всероссийского симпозиума, М., 1999, - с. 104-110
120. Федорова Е.В. Возможности трансвагинальной эхографии, цветного доплеровского картирования и доплерометрии в диагностике гиперпластических процессов эндометрия и оценке эффективности проводимого лечения: Автореферат дисс. ...к.м.н. — М., 2000. — 34с.
121. Франк Г.А. Морфологические особенности диспластических изменений эндометрия. // Арх. пат. -1990. Т. 52, №9. —С. 18-24
122. Фролова О.Г. Репродуктивное здоровье женщин. // Качество жизни. Медицина, 2004, -№3(6). —С. 9-12
123. Хаит О.В. Клинико-иммунологические аспекты комплексного лечебного воздействия при гистеропластических процессах в эндо- и миометрия // Дисс. докт. мед. наук. — Одесса, 1990. — С. 91-92
124. Харенкова Е.Л., Артымук Н.В., Иленко Е.В., Уляева Л.Ф., Хвостова Е.П. Генетический полиморфизм ферментов метаболизма эстрогенов у женщин с гиперпластическими процессами эндометрия в перименопаузе. Бюллетень РАМН, №2 (136), 2009 г., с. 5-8.
125. Хашаева Т.Х. К диагностике гиперпластических процессов эндометрия в ранней постменопаузе // Материалы симпозиума: «Проблемы пери- и постменопаузального периода» 5-6 марта. — М., 1996, — С. 91-92
126. Хохлова И.Д., Бахвалова А.А, и др. Абляция эндометрия как альтернатива гормональной терапии при рецидивирующих гистеропластических процессах слизистой матки // Современные вопросы медицины. — Рязань, 1998, — Т. 2, — С. 113-117
127. Хохлова И.Д., Кудрина Е.А. Диагностика и лечение гиперпластических процессов эндометрия // Акуш. и гин. — 1996. -№4. —С. 50-55

128. Хужокова И.Н. Диагностическая и лечебная тактика при полипах эндометрия в постменопаузе // Автореф., дисс... канд. мед. наук, — М., 2001
129. Чернуха Г.Е. Аденоматозная и железистая гиперплазия эндометрия в репродуктивном возрасте (патогенез, клиника, лечение): Автореферат дисс. ... д.м.н. — М., 1999. 40с.
130. Чернуха Е.Г. Сметник В.П. Применение метформина у больных с яичниковыми формами гиперандрогении и рецидивирующей гиперплазией эндометрия
131. Чехова А.Н. Система обследования и тактика лечения больных гиперпластическими процессами эндометрия в репродуктивном периоде и пременопаузе: Автореферат дисс. ... к.м.н. — М., 2000. — 28с.
132. Чиссов В.И., Соколов В.В., Булгакова (Жаркова) Н.Н., Филоненко Е.В. Флюоресцентная эндоскопия, дермоскопия и спектрофотометрия в диагностике злокачественных опухолей основных локализаций // Российский биотерапевтический журнал, 2003, -№4, с. 45-56
133. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. (под ред.) Злокачественные новообразования в России в 2001 г (заболеваемость и смертность), М., Минздрав РФ, 2003
134. Шалькова М.Ю. Рак эндометрия: метилирование генов hMLH1 и APC как факторы риска и закономерность прогрессирования: Диссертация ... к.м.н. Киев, 2008
135. Шарапова О.В., Осипова А.А., Самойлова А.В., Матвеева В.А., Гунин А.Г. Гормональный статус женщин с гиперпластическими процессами эндометрия // Пробл. Репрод. — 2006. —Т. 12 -№3. —С. 31-36
136. Шенталь В.В., Пачес А.И., Лощенов В.Б. и соавт. Спектрально-аутофлюоресцентная диагностика опухолей головы и шеи // С сб. Опухоли головы и шеи, М., 1994, - с. 17-20
137. Шешукова Н.А., Макаров И.О., Овсянникова Т.В. Гиперпластические процессы эндометрия: особенности

- пролиферативной активности при сочетании с хроническим эндометритом. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2011; 3: 10-5
138. Шуршалина А.В. Хронический эндометрит у женщин с патологией репродуктивной функции. // Автореф. дисс. ...д.м.н. — М. - 2007. — 280с.
139. Э.Н. Бикбов, В.А. Привалов, Е.Л. Куренков. Эффекты фотодинамической терапии с препаратом Радахлорин в эксперименте на мышцах с перевитой аденокарциномой Эрлиха // Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура»-2008- выпуск 19- С.83-87
140. Эренпрейса Е.А. Организация хроматина нормальных и опухолевых клеток: Автореф., дисс... канд. мед. наук. — Киев, 1991
141. Якубовская Р.И., Казачкина Н.И. и соавт. Скрининг и медико-биологическое изучение отечественных фотосенсибилизаторов // *Российский химический журнал*, 1998, -т. XLII, с. 17-23
142. Ялгут С.И. Профилактика опухолей. — М.: «Книга-плюс». – 2006. — 456с.
143. Aalders M.C., Sterenborg H.J., Stewart F.A., et al. Photodetection with 5-aminolevulinic acid-induced protoporphirin IX in the rat abdominal cavity: drug-dose-dependet fluorescence kinetics // *J Photochem Photobiol*, 2000 Oct, - 72, - p. 521-5
144. Abdel-Hady E.S., Martin-Hirsch P., Duggan-Keen M. Immunological and viral factors associated with the response of vulval intraepithelial neoplasia to photodynamic therapy // *Cancer Res.*, - 2001 Jan, 61, -p. 192-6
145. Ackroyd R., Brown N.J., Vernon D.I. etl al. 5-animolevunilic acid photosensitisation of dysplastic Barret's esophagus: a pharmacokinetic study // *Photochem Photobiol.*, 1999, - 70, - p. 656-662
146. Adamson G.D., Martin D. C. Endoscopic management of gynecologic disease // — Philadelphia: Lippincott, 1996. — 440 p
147. Allison K.H., Tenpenny E., Reed S.D., Swisher E.M., Garica R.L. Imunnohistochemical Markers in Endometrial Hyperplasia: Is There a Panel

- With Promise?: A Review. *Immunohistochemistry & Molecular Morphology*.  
July 2008 – Volume 16 – Issue 4 – pp 329-343
148. Anigjar M., Etori D., Cussenot O., et la. Laser induced autofluorescence of bladder tumors: dependence on excitation wavelength // *J. Yrol.*, 1996, - 156(5), - p. 1590-1596
  149. Baggish M.S. Anatomy of the uterus. In Baggish M.S., Barbot J. and Valle R.F. (eds). *Diagnostic and Operative Hysteroscopy. A Text and Atlas*, 1989, pp 18-22. Chicago: Year Book Medical Publishers, inc.
  150. Baumgartner R. Latest results of 5-ALA-based fluorescence diagnosis and other medical disciplines // *Proc. SPIE*, 1999, -v. 3563, -p. 90-99
  151. Bays R., Woodtli A., Mosimann L., et al. A light distributor for photodynamic endometrial ablation // Wyss P., Tadir Y., Tromberg B.J., Haller U. (eds): *Photomedicine in gynecology and reproduction*, Basel, Karger, 2000, p. 243-245
  152. Beer A.E., Kwak J. — Reproductive medicine program Finch University of Health Science. — Chicago Medical School. — 2000. — 96 p.
  153. Beil M., Wolf G., Guski H. Chromatin Structure analysis Based on a Hierarhic Texture Model // *Analitical and Quatitative Cytology and Histology*, vol. 16, N1, Feb., 1994, P 35
  154. Benavides J.M., Chang S., Park S.Y. Multispectrtal digital colposcopy for in vivo detection of cervical cancer // *Opt. Express*, 2003, -v. 11, №10, p. 1223-1236
  155. Bircan S., Ensari A., Ozturk S. et al. Immunohistochemical Analysis of c-Myc, c-Jun and Estrogen Receptor in Normal, Hyperplastic and Neoplastic Endometrium// *Pathology Oncology Research* – 2005. – Vol. 11, #1. – P. 32-39
  156. Bissonette R., Zeng H., McLean D.I., et al. Psoratic plaques exhibit red autofluorescence that is due to protoporphyrin IX // *J Invest Dermatol*, 1998, 111:4, - p. 568-591

157. Bottiroli G., Croce A.C., Localetti D., et al. Autofluorescence: an aid for intra-operative delineation of tumor resection margins // *Cancer detect. Prevent*, 1998, 22(4), -p. 330-339
158. Bottomley S.S., Muller-Eberhard U. Pathophysiology of heme synthesis // *Semin Hematol*, 1998, 25, -p. 282-302
159. Brooks P.G., Complication of Operative Hysteroscopy. In book: *Gynecologic Resectoscopy*. Bieber E.J. et Loffer F.D. Edit., Phoenix, «Blackwell Science», 1995, 269-286
160. Brooks P.G., Sergen S.P. Hysteroscopic findings after unsuccessful dilatation and curettage for abnormal bleeding. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1998, 158, 1354-1357
161. Brosens I., Wamsteker K. Diagnostik imaging and endoscopy in gynecology. — N.: Saunders Co., 1997. — 365 p.
162. Brown S/B., Gannon M.J., Holroyd A. et al. Use of ATA-PDT for endometrial ablation in the treatment of menorrhagia // Wyss P., Tadir Y., Tromberg B.J., Haller U. (eds): *Photomedicine in gynecology and reproduction*, Basel, Karger, 2000, p. 219-226
163. Canis M., Botcorishvili R., Berreni N. et al. 5-aminolevulinic acid-induced (ALA) fluorescence for the laparoscopic diagnosis of peritoneal metastasis. *AST An experimental study* // *Surg Endosc*, 2001 Oct., - 15(10), - p. 1184-6
164. Cooper J.M., Brady R.M. Hysteroscopy in the management of abnormal uterine bleeding // *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* — 1999. — V. 27, N2. — P. 217-236
165. Cothren R.M., Richards-Kottrum R.R., Sivak M.V. et al. Gastrointestinal tissue diagnosis by laser induced fluorescence spectroscopy et endoscopy // *Gastrointest Endosc*, 1990, 36, - p. 105-111
166. Coulter A., Klassen A., Mackenzie I.Z. et al. Diagnostic dilatation and curettage is it used appropriately? // *British Medical Journal*, 1996, 306, 236-239

167. Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*, 2002, 420, 860-67
168. Darwish A.M., Makhlof A.M., Yousof A.A. Hysteroscopic myometrial biopsy in unexplained abnormal uterine bleeding // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* — 1999. — V. 86, N2. — P. 139-143
169. Davis E.J. Removal by enucleation of an intrauterine musculo-fibroid polyps. // *Transact. Minnesota Med. Soc.* — 1988. — P. 67-70
170. Debeljak A., Triller N., kecelj P. Autofluorescence bronchoscopy in the diagnosis of preneoplastic changes and bronchial carcinoma // *Zdrav Vestn*, 2002, 71, - p. 449-59
171. Dhingra J.K., Perrault D.F., McMillan K. et al Early diagnosis of upper aerodigestive tract cancer by autofluorescence // *Arch. otolaryngol-Head Neck Surg.*, 1996, - 122(11), p. 1181-1186
172. Dijkhuizen E.P.H.L.J., Brolman H.A.M., Potters A.E. et al. The accuracy of transvaginal ultrasonography in the diagnosis of endometrial abnormalities. *Obstet and Gynecology.*, 1996, 87, 345-349
173. Donnes J., Nisolle M. Endoscopic laser treatment of the uterine malformations // *Hum. Reprod.* — 1997., — V. 12, N7. — P. 1381-1387
174. Dutta D.C. Textbook of gynecology. New central book agency (P) Ltd/ India/ - 2008. — 628p.
175. Embryonic Medicine and Therapy. — Edit E. Jauniaux, E.R. Barnea, R.G. Edwards. — Oxford Univer. Press. — 1997. — 524 p.
176. Epstein E., Ramirez A., Skoog L. and Valentin L. Transvaginal sonography, saline contrast sonohysterography and hysteroscopy for the investigation of women with postmenopausal bleeding and endometrium > 5mm. *Obstet. and Gynecol.* 2001 –P. 157-162
177. Fahey M.T., Irwig L., Macaskill P. Meta-analysis of pap test accuracy // *Am. J. Epidemiol.*, 1995, 141(7), - p. 680-689
178. Fehr M. K., P. Wyss, Y. Tadir et al. Pharmacokinetics of ALA in human uterine tissue // Wyss P., Tadir Y., Tromberg B.J., Haller U. (eds):

- Photomedicine in gynecology and reproduction, Basel, Karger, 2000, -p. 227-233
179. Fehr M.K., Hornung R., Degen A. Photodynamic therapy of vulval and vaginal condyloma and intraepithelial neoplasia using topically applied 5-aminolevulinic acid // *Lasers Surg Med*, 2002, 30, -p. 273-9
  180. Freireich E.J., Gehan E.A., Rall D.P. et al. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man // *Cancer Chemotherapy Reports*, 1996, 50 (4), p. 219-244
  181. Gold L.I., Saxena B., Mittal K.R., Marmor M. et al. Increased expression of transforming growth factor beta isoforms and basic fibroblast growth factor in
  182. Goldberg M.A., Schneider T.J. Similarities between the oxygen-sensing mechanisms regulating the expression of growth factor and erythropoietin. *J Biol Chem* (1994; 269; 4353-4359)
  183. Goodger A.M., Rogers P.A. Endometrial cell proliferation during the menstrual cycle. // *Hum Reprod*. 1994 Mar; 9(3):399-405
  184. Grandberg S., Wikland M. and Karsson B. Endometrial thickness as measured by endovaginal ultrasonography for Obstetrics and Gynecology, 1991, 164, 47-55
  185. Намов Ж., Раоссаналь К., Карусо Г. et al. Лечение стойкой менорагии с помощью гистероскопической резекции эндометрия // *Эндоскопия в диагностике и лечении патологии матки / Под ред. Кулакова В.И., Адамян Л.В., — М., 1997. — Т. 1. — С. 82.*
  186. Helen E.A., Coghill S.B., Shaxted E.J. The histopathology of transcervical resection of the endometrium: an analysis of 200 cases. // *Histopathology*. – 1993. – Vol.22. – P. 361-365
  187. Hulka J.F., Peterson H.A., Philips J.M. Operative hysteroscopy: American Association of Gynecologic Laparoscopists 1993 membership survey // *J. Am. Assoc. Gynec. Laparosc.* — 1995. — V. 1. — P. 464-467

188. Huppert B., Gauster M. et al. — Oxygen as modulator of trophoblast invasion. — *J. Anatomy.* — 2009. — Vol. 215, issue 1. — p. 14-20.
189. Iles R. K., Wathen N.C. et al. — Human Chorionic gonadotrophin subunit composition of maternal serum and coelomic and amniotic fluids in the first trimester of pregnancy. — *J. Endocrin.* — 1992 — v. 135. — p. 563-569
190. Jauniaux E. Hempstock J. et al. -Trophoblastic Oxidative Stress in Relation to temporal and Regional Differences in Maternal Placental Blood Flow in Normal and Abnormal Early Pregnancy.- *Amer. J.Patol.*-2003 - v. 162. -.V2 1: 115-125.
191. Jauniaux. E., Burton G.J. - Morphological and biological effects of maternal exposure to tobacco smoke an the feto-placental unit. - *Early Hum. Dev.* - 2007-83(11):699-706.
192. Jauniaux. E., Waston A. , Burton G. - Evaluation of respiratory gases in human fetal fluids and uteroplacental tissue between 7 and 16 weeks' gestation. - *Amer. J. Obstet. Gynecol.* -2001. - v. 184. - N'25. - p. 998-1003.
193. Jensen H.H., Hussain S.F., Pedersen P.H. Atypical endometrial hyperplasia. Prognosis and coursc. // *Ugeskr. Laeger.* — 2000. —V. 162, N2. — P. 666-669
194. Jonathan S. Dysart and Michael S. Patterson; Characterization of Photofrinphotobleaching for singlet oxygen dose estimation during photodynamic therapy of MLL cells in vitro. *J.Photochem. Photobiol, Phys. Med. Biol.* 50 (2005) p.2597-2616.
195. Kafahl J., Pederson I., Sinberg Eriksen P. et al. Trabsvaginal ultrasound, eddometrial ctology sampled by Gynoscann and histology obtained by Uterine Explora Curette compared to the histology of uterine specimen. A prospective study in pre- and postmenopausal women undergoing elective hysterectomy.// *Acta. Obstet. Gynecol Scand.* — 1997. — Vol. 76, №38. — P. 790-796.

196. Kashiwabuchi, R.T. Antimicrobial susceptibility of photodynamic therapy (UVA/riboflavin) against *Staphylococcus aureus* / R.T. Kashiwabuchi, Y. Khan, F.R. Carvalho et al. // *Arq. Bras.Oftalmol.* – 2012. - №75(6)
197. Li T.C. Tuckerman E.M. , Laird S.M. -- Endometrial factors in recurrent miscarriage. - *Hum. Reprod. Update.* - 2002. - vol.8 - Nil. - p. 43-52.
198. Li Z., Hardt J., Kim J.J. - Global analysis of genes regulated by 1-10X MO in decidualization. - *Mol. Hum. Reprod.* - 2008. - 14(6): 357-66.
199. Loverro G., Perlino E., Maiorano E., Cormio G. et al. TGF-beta 1 and IGF-1 expression in atrophic post-menopausal endometrium.// *Maturitas*, 1999 Jan 4., 31(2), p. 179-84
200. Lu H., Ouyang W., Huang C. Inflammation, a key event in cancer development. *Mol Cancer res*, 2006, 4(4), 221-233
201. M.L.Gelfond, D.L.Vassiliev. Photoditazine mediated chemosensitized blood photomodification. Advanced tumor treatment preliminary results. *Proc. SPIE*, 5973 (2005), OX-1-7,
202. M.Wainwright Photodynamic antimicrobial Chemotherapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*..42 (1998) p.13-28.
203. Maffini M., Soto A., Calabro J., Ucci A. and Sonnenschein C. The stroma as a crucial target in rat mammary gland carcinogenesis. // *J. Cell Sci.* -2004 – Vol. 117. – P. 1495-1502
204. Mitselou A, Ioachim E, Kitsou E, et al Immunohistochemical study of apoptosis-related Bcl-2 protein and its correlation with proliferation indices (Ki67, PCNA), tumor suppressor genes (p53, pRb), the oncogene c-erbB-2, sex steroid hormone receptors and other clinicopathological features, in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *In Vivo.* - 2003. - Vol. 17, N25.-P. 469-477.
205. Moller B., Rasmussen C., Lindblom B., Ovolsson M. Expression of the angiogenic growth factors VEGF, FGF-2, EGF and their receptors in normal

- human endometrium during the menstrual cycle. // *Hum Reprod*, 2001 Jan; 7(1): 65-72
206. Mutter G.L., Ince T.A., Baak J.P., Kurst G.A. et al. Molecular identification of latent precancers in histologically normal endometrium. // *Cancer Res*, 2001, 61:4311-4314
207. Nieminen T.T., Gylling A., Abdel-Rahman W.M., Nuorva K., Aarino M., Renkonen-Sinisalo L., Jarvinen H.J., Mecklin J.P., Butzow R, Peltomaki P. Molecular analysis of endometrial tumorigenesis: importance of complex hyperplasia regardless of atypia. // *Clin Cancer Res*. 2009; v. 15, n. 18, p. 5572-5783
208. Novak's Gynecology: Janathan S. Berek. 2002, Lippincott Williams & Wilkins
209. Qian K., Chen H. et al. - Differentiation of endometrial stromal cells. - *Mol. Hum. Reprod.* - 2005. - 11(4); 245-51.
210. Quenby S., Anim-Somuah M. - Different types recurrent miscarriage. - *Reprod. Biomed. Online* - 2007 - 14(2): 224-34.
211. Rai R., Backos M. et al. - Factor V Leiden and recurrent miscarriage. - *Hum. Reprod.* — 2002. - 17(2): 442-445.
212. Sebire N.J., Fox H. et al. - Defective endovascular trophoblast invasion in primary antiphospholipid antibody syndrome - associated early pregnancy failure. - *Hum. Reprod.* - 2002. - v 17. - N9 4. - p. 1067-71.
213. Tuckerman E.M. , Laird S.M. et al. - Markers of endometrial function in women with unexplained RPL. - *Hum. Reprod.* - 2004. - 19(1): 196-205.