

На правах рукописи

БОГАТОВА МАРИНА ЕВГЕНЬЕВНА

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РЕЦИДИВА
ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ КИСТ ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ
ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Иваново – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Качалина Татьяна Симоновна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
кафедра акушерства и гинекологии №1
ФГАОУ ВО «Первый Московский
государственный медицинский
Университет имени И.М. Сеченова»
Минздрава России, профессор

Унаниян Ара Леонидович

доктор медицинских наук, профессор,
кафедра акушерства, гинекологии и
перинатологии ФГБОУ ВО
«Кубанский государственный
медицинский университет» Минздрава России,
заведующий

Куценко Ирина Игоревна

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2021 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д208.028.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 153045, г.Иваново, ул. Победы, д. 20.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В.Н. Городкова» Минздрава России (www.niimid.ru).

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Панова Ирина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность научного исследования

Согласно современным представлениям, эндометриоз – это генетически обусловленное хроническое дисгормональное иммунозависимое заболевание, при котором за пределами полости матки происходит разрастание ткани по морфологическим и структурным особенностям подобной эндометрию (А.Э. Протасова, 2016; Э.И. Бабаева, 2016; О.С. Попова, 2019).

Эндометриоз называют «запущенным» заболеванием, поскольку от момента появления первых симптомов до постановки диагноза в среднем проходит 7-11 лет (S.K. Agarwal et al., 2019). При этом общепризнано, что степень тяжести заболевания может не коррелировать с имеющимися симптомами и репродуктивными результатами (N.P. Johnson et al. 2017).

В последние годы число диагностированных случаев заболевания демонстрирует экспоненциальный рост, и эндометриоз приобретает все большее медико-социальное значение, что связано с тяжелыми клиническими проявлениями, рецидивирующим течением заболевания и неблагоприятными последствиями для здоровья в целом, оказывающими негативное влияние на качество жизни и трудоспособность женщин (M. Ghiasi et al., 2020).

Как известно, эндометриоидная киста яичников (ЭК) - наиболее частое диагностируемое проявление эндометриоза. Эндометриомы обнаруживают у 10 – 14% женщин, оперированных по поводу различных объемных образований органов малого таза. В структуре генитального эндометриоза на долю эндометриоидных кист яичников приходится до 59% случаев (Y.B. Aznaurova et al., 2014; X.Y. Lee, 2019).

На сегодня рецидивирование эндометриоидных кист является одной из наиболее сложных проблем в современной гинекологии (Е.Ю. Пшеничнюк, 2018).

Частота этого осложнения, по данным различных исследований, колеблется от 6 до 67% (A.R. Han, 2018; X.Y. Lee, 2019).

Сегодня медицинское сообщество заинтересовано в поиске патогенетически обоснованных факторов риска развития рецидива эндометриоидных кист яичников, методов его профилактики, что позволит снизить необходимость повторных хирургических

вмешательств, сохранить репродуктивный потенциал и улучшить показатели качества жизни пациенток.

Степень разработанности темы

Согласно данным современной научной литературы, спорными остаются вопросы о ранней диагностике эндометриоза, причинах рецидивирования эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения даже с последующей противорецидивной гормональной терапией.

Очевидно, что поиск патогенетически обоснованных прогностических маркеров рецидива эндометриом необходим клиницистам для обоснования новых подходов к диагностике и лечению этого осложнения.

Представляют интерес немногочисленные современные исследования, направленные на прогнозирование развития рецидива эндометриоидной болезни.

Одни авторы предлагают оценивать возможный риск на основании повышения уровня лептина и интерлейкина-6 в сыворотке крови спустя 3 месяца после органсохраняющей операции (О.Н. Орлов, 2005). Однако, к недостаткам этого метода можно отнести небольшую точность в связи с тем, что показатели определяются в сыворотке крови, а не локально, непосредственно в эндометриоидных имплантах или в перитонеальной жидкости, окружающей их. Кроме того, авторы отмечают различную динамику в экспрессии указанных факторов в зависимости от наличия или отсутствия бесплодия и степени распространения эндометриоидной болезни.

Ряд исследователей отмечают повышенную экспрессию маркеров пролиферации, апоптоза, адгезии, воспаления в ткани эндометриом (Е.Ю. Пшеничниук и соавт., 2018; Сидорова И.С. и соавт. 2011; С.О. Дубровина, Ю.Д. и соавт., 2018).

Имеются данные о различных уровнях разнообразных биохимических показателей непосредственно в перитонеальной жидкости пациенток с наружным генитальным эндометриозом (П.Г. Кондратьева и соавт., 2007; Р.В. Павлов и соавт., 2008; D. Wickiewicz et al., 2013; A. Funamizu et al.; 2014; I. Velasco et al., 2010). Однако в этих работах не проводилась оценка корреляции между уровнем исследуемых цитокинов и риском рецидива заболевания.

Проведение настоящего исследования было продиктовано безусловной значимостью проблемы рецидива эндометриоидной болезни, необходимостью выбора комплекса молекулярно-биологических, морфологических и иммуногистохимических маркеров возможного

рецидива эндометриоидного процесса, что позволит повысить диагностическую эффективность прогноза этого осложнения и создать патогенетически обоснованный, дифференцированный подход к послеоперационному ведению пациенток с эндометриоидными поражениями яичников.

Цель исследования: на основании комплексного клиничко-лабораторного обследования выявить патогенетические факторы риска рецидива эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения.

Задачи научного исследования

1. Провести сравнительный анализ преморбидного фона, сопутствующей патологии, особенностей клинического течения заболевания у лиц с рецидивом эндометриоидных кист яичников и без него.
2. Оценить цитокиновый состав перитонеальной жидкости у пациенток с рецидивом эндометриоидных кист яичников и при его отсутствии.
3. Выявить морфологические особенности состояния капсулы эндометриоидной кисты при рецидиве заболевания.
4. Изучить роль молекулярно-биологических процессов неангиогенеза, пролиферации, апоптоза в развитии рецидива эндометриоидных кист яичников.

Научная новизна исследования

1. Впервые установлено, что для прогнозирования риска рецидива эндометриоидных кист после хирургического лечения необходимо комплексное исследование в перитонеальной жидкости уровня VEGF и TNF α . При значении VEGF 125,6 пг/мл и выше с точностью 79,8% (чувствительность 100%, специфичность 71%) следует прогнозировать рецидив эндометриомы. Для исключения ложных результатов необходима оценка экспрессии TNF α и при его значениях 1,725 пг/мл и более с точностью 82,4% (чувствительность 60%, специфичность 93,5%) следует предполагать рецидив эндометриоидной кисты.
2. Выявлено, что для оценки риска рецидива эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения необходимо определять экспрессию иммуногистохимического маркера CD34 в кровеносных сосудах патологического образования. Установлено, что при значении CD34 2,5% и более с точностью 80,8%,

чувствительностью 90%, специфичностью 75% следует прогнозировать рецидив заболевания.

Теоретическая и практическая значимость

Включение оценки экспрессии VEGF и TNF α в перитонеальной жидкости и содержания CD34 в капсуле эндометриоидных кист позволит оценить риск рецидива заболевания после хирургического лечения и разработать дифференцированные подходы к тактике ведения пациенток после оперативного вмешательства.

Разработан способ прогнозирования рецидива эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения (заявка на изобретение № 2021109835 от 09.04.2021).

Методология и методы исследования

Представленное научное исследование проводилось на кафедре акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России г. Нижнего Новгорода на базе I и II гинекологических отделений НОКБ им. Н.А. Семашко и ГБУЗ НО «ГКБ №29 Приокского района г. Нижнего Новгорода» в период с 2016 по 2020 гг.

В данное научное исследование вошли 100 пациенток в возрасте от 20 до 46 лет, прооперированные по поводу ЭК яичников, из них 82 прооперированы впервые по поводу эндометриом, 18 – повторно по поводу произошедшего рецидива патологического образования. Ретроспективно женщины были разделены на 3 группы. В первую вошли 63 пациентки, прооперированные первично по поводу ЭК яичников, у которых в процессе периода наблюдения продолжительностью 2,5 года не был диагностирован рецидив эндометриомы (N1). Вторую группу составили 19 женщин, прооперированных впервые и у которых в течение периода наблюдения был выявлен рецидив опухоли после первичного хирургического лечения (N2), в третью – 18 пациенток, прооперированных по поводу уже случившегося рецидива заболевания (N3).

Дизайн исследования включал 3 этапа:

1. Этап анализа клинических особенностей, результатов лабораторных и инструментальных методов исследования, проведенных до хирургического вмешательства.
2. Изучение цитокинового состава перитонеальной жидкости.
3. Оценка морфологических и иммуногистохимических особенностей капсулы эндометриоидных кист.

При обследовании пациенток изучались следующие показатели: возраст, социальное положение, индекс массы тела (ИМТ), менструальная и детородная функции, сведения о различных формах болевого синдрома оценённых по визуально-аналоговой шкале (ВАШ), информация о перенесенных гинекологических заболеваниях и операциях, соматический статус, аллергологический анамнез, сведения о длительности заболевания, предшествующих методах лечения, выполнялся общий и гинекологический осмотр, на дооперационном этапе проводилась оценка уровня углеводного антигена – 125 (carbohydrate antigen – 125, CA-125) и антимюллера гормона (АМГ) в сыворотке крови.

Всем женщинам с целью оценки состояния матки, придатков и ректовагинальной клетчатки выполнено эхоскопическое сканирование внутренних половых органов трансвагинальным датчиком с использованием диагностической ультразвуковой системы высокого класса Accuvix V 10-RUS (Производитель: MEDISON Co., Ltd, республика Корея).

Хирургическое лечение осуществлялось лапароскопическим доступом с использованием расширенного лапароскопического набора для гинекологии «OLYMPUS».

Интраоперационно забиралась перитонеальная жидкость для оценки следующих иммунологических показателей: интерлейкина 6 (interleukin 6, IL-6), интерлейкина 8 (interleukin 8, IL-8), фактора некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor α , TNF α), интерлейкина 1 бета (interleukin 1 β , IL-1 β), интерлейкина 17 (interleukin 17, IL-17), сосудистого эндотелиального фактора роста (vascular endothelial growth factor, VEGF), моноцитарного хемоаттрактантного протеина 1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP 1). Для определения концентрации исследуемых цитокинов применялся метод твердофазного иммуноферментного анализа с использованием иммуноферментного анализатора SUNRISE (фирма "Tecan Austria GmbH", Австрия, серийный номер 908006135, программное обеспечение Magellan V 6.5) и набор следующих реагентов «ИФА-IL-6», «ИФА-IL-8», «ИФА-TNF-alpha», «IL 1- β », «ИФА-IL-17A» (производитель ООО «Цитокин», г. Санкт-Петербург), «VEGF-ИФА-БЕСТ» и «MCP-1-ИФА-БЕСТ» (производитель АО «Вектор-Бест», Новосибирская область, р.п. Кольцово).

Пациенткам групп исследования выполнено морфологическое исследование капсул эндометриоидных кист на базе прозектория НОКБ им. Н.А. Семашко и ГБУЗ НО «Родильный дом №5» г. Нижний Новгород

и иммуногистохимический (ИГХ) анализ для определения экспрессии маркеров пролиферации, апоптоза и ангиогенеза. ИГХ-исследование проводили на срезах с парафиновых блоков операционного материала (эндометриоидных кист) с использованием мышинных моноклональных антител к Ki67, P53, VEGF и CD34. Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа «Leica» (Германия) под увеличением $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$. Для всех маркеров оценивали локализацию окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма, мембрана).

Статистический анализ результатов проводился с применением пакетов прикладных компьютерных программ IBM SPSS Statistics 19 («IBM») и Microsoft Office Excel 2016 («Microsoft») по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения.

Положения, выносимые на защиту

1. Для пациенток с рецидивом эндометриоидных кист яичников характерны низкий индекс массы тела, наличие в анамнезе патологии желудочно-кишечного тракта, хронических воспалительных процессов придатков матки, операций на внутренних половых органах в связи с патологией, не связанной с эндометриозом, распространенность патологического процесса (двусторонние эндометриомы, инфильтративные и малые формы эндометриоидной болезни, выраженный спаечный процесс), а также высокие значения СА-125.
2. Риск рецидива эндометриоидных кист яичников связан с превышающими физиологические значения следующими иммунологическими показателями в перитонеальной жидкости: IL-6, IL-8, IL-1 β , IL-17, TNF α , VEGF, MCP 1. Наибольшую патогенетическую значимость в развитии рецидива эндометриом после органосохраняющей операции имеют уровни VEGF и TNF α .
3. К патогенетическим факторам риска рецидива эндометриом после хирургического лечения следует отнести некоторые морфологические признаки (меньшее соотношение строма/эпителиальный компонент, цитогенная строма, эпителиальная выстилка с призматическим эпителием и отложениями гемосидерина) и иммуногистохимические особенности капсулы эндометриоидной кисты (высокая экспрессия CD34 в кровеносных сосудах патологического образования).

Личное участие автора

Автором проведен анализ источников литературы, набор пациентов, сбор клинико-anamnestических данных, забор биологического материала для иммунологического, морфологического и иммуногистохимического анализа, динамическое наблюдение за пациентками, входящими в настоящее исследование. Создана база данных полученных характеристик и проведена их обработка с помощью статистических программ с их последующим обобщением для написания выводов и научно-квалификационной работы.

Автором написано 8 печатных научных работ, в которых отражены основные результаты диссертационного исследования.

Внедрение результатов в практику

Результаты проведенного исследования внедрены в работу ГБУЗ НО «Городская клиническая больница №29 Приокского района г. Нижнего Новгорода», учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

Апробация работы

Результаты проведенного исследования были доложены и обсуждены на XVII межрегиональном медицинском форуме «Неделя женского здоровья – 2016» (Нижний Новгород, 2016 год), региональной научно-практической конференции «Репродуктивные технологии. Бесплодный брак» (Нижний Новгород, 2016 год), межрегиональной конференции «Нижегородские чтения» (Нижний Новгород, 2017 год), XVIII межрегиональном медицинском форуме «Неделя женского здоровья – 2017» (Нижний Новгород, 2017 год), XIX межрегиональном медицинском форуме «Неделя женского здоровья – 2018» (Нижний Новгород, 2018 год), XX юбилейном межрегиональном медицинском форуме «Неделя женского здоровья – 2019» (Нижний Новгород, 2019 год), II Общероссийской научно-практической онлайн-конференции для акушеров-гинекологов «Отговские чтения» (Санкт-Петербург, 2020 год), XXI межрегиональном медицинском форуме акушеров-гинекологов ПФО «Неделя женского здоровья – 2020» (Нижний Новгород, 2020 год).

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 8 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах, включенных в перечень изданий,

рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации научных результатов диссертаций.

Объём и структура диссертации

Диссертация изложена на 124 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, двух глав результатов собственных исследований, обсуждения, выводов и практических рекомендаций. Библиографический указатель включает 188 источника, из них 71 отечественных и 117 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 9 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе возрастной принадлежности обследуемых пациенток выявлено, что наиболее часто впервые выявленные эндометриозные кисты и их рецидив встречались в возрастном промежутке 31-35 лет (среди первой группы 19 человек - 30,16%, второй группы 6 человек - 31,6%, третьей – 8 человек – 44,5%), что согласуется с литературными сведениями, согласно которым наиболее уязвимой в отношении развития эндометриозной болезни является возрастная группа 25-35 лет – возраст, когда женщины активно строят карьеру, создают семьи и планируют беременность (The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2013; Е.С. Тихонова, 2013; J.W Seo et al., 2017).

При оценке менструальной функции выяснено, что средний возраст менархе среди пациенток с впервые выявленными эндометриозными кистами составил $12,9 \pm 1,15$ лет, с рецидивом заболевания после первичного хирургического лечения – $13,1 \pm 1,39$ лет, прооперированных по поводу уже случившегося рецидива - $12,8 \pm 1,11$ ($p > 0,05$).

Что касается продолжительности менструального цикла, то выявлено, что его длительность у пациенток первой группы составила $28,6 \pm 1,96$ дней, второй - $27,8 \pm 1,91$ дней, третьей - $27,8 \pm 6,4$ дней ($p > 0,05$). Количество дней менструального кровотечения - $5,6 \pm 1,06$, $5,4 \pm 1,67$ и $5 \pm 1,75$ дней соответственно ($p > 0,05$).

Дисменорея статистически значимо чаще фиксировалась у пациенток первой группы – 68,3% ($p < 0,05$) по сравнению с женщинами 2 других групп исследования (57,9% и 44,5% соответственно).

Боль в нижних отделах живота и в поясничной области, усиливающаяся перед менструацией, чаще имела место у женщин без рецидива заболевания (61-96,8%, $p < 0,05$) в сравнении с пациентками с рецидивом эндометриоидных кист яичников после первичного хирургического лечения (17-89,4%) и прооперированных по поводу уже случившегося рецидива ЭК (14-77,7%).

Таким образом, выявленные данные не позволяют нам рассматривать болевой синдром как фактор риска рецидива эндометриом.

Полученная информация совпадает с мнением Л.В. Адамян и соавт., В. McKinnon и соавт., согласно которому выраженность болевых ощущений носит субъективный характер ввиду индивидуальных особенностей болевой чувствительности (Л. В. Адамян и др., 2019) и имеет более «яркий» характер при связи эндометриоидных имплантов с нервными волокнами, что при эндометриоидных кистах случается достаточно редко (В. McKinnon et al., 2012).

Одной из причин обращения обследованных пациенток за медицинской помощью послужило отсутствие наступления беременности. Нереализованная репродуктивная функция фиксировалась у 28% женщин и не имела отличий у пациенток групп исследования.

Полученная в ходе собственных наблюдений информация совпадает с существующими литературными данными, согласно которым распространенность бесплодия у женщин с эндометриозом составляет 25-50% (Д.В. Богуславская и соавт., 2011; D.A. Lessey, 2011).

Жалобы на мажущие кровянистые выделения до и после менструации, а также в середине менструального цикла чаще предъявляли пациентки третьей группы исследования (7 человек – 38,9%), что имеет статистически значимые различия по сравнению с пациентками первой (7 человек – 11,1%) и второй группы (1 человек – 5,3%), $p < 0,01$.

Указанный симптом может быть следствием аденомиоза (данная патология диагностирована по результатам УЗИ у 42,9% пациенток первой группы исследования, 47,4% второй и 50% третьей групп, $p > 0,05$).

При оценке акушерского анамнеза статистически значимых различий у пациенток с рецидивом заболевания и без него по частоте родов, абортот и репродуктивных потерь не получено.

Тем не менее следует отметить, что у женщин с впервые выявленными эндометриоидными кистами в анамнезе не было указаний на неразвивающуюся беременность, в отличие от пациенток с рецидивом заболевания ($p < 0,05$), и внематочную беременность по сравнению с

пациентками, прооперированными по поводу уже случившегося рецидива новообразования ($p < 0,05$).

В доступной литературе имеются сведения, согласно которым у пациенток с рецидивом эндометриозных кист яичников в анамнезе чаще имеются указания на репродуктивные потери, что является следствием снижения качества сперматозоидов, ооцитов, эмбрионов, а также может быть вызвано функциональной неэффективностью и изменением рецептивности эндометрия (Л.В. Адамян и соавт., 2014; Е.А. Коган и соавт., 2014; Т. Garrido-Gómez, et.al., 2013; В.А. Lessey et al., 2017).

Анализируя результаты настоящего исследования оказалось, что сопутствующая гинекологическая патология преобладала у пациенток, прооперированных по поводу уже случившегося рецидива эндометриозных кист яичников после хирургического лечения ($p < 0,05$), причем решающую роль играли хронические воспалительные заболевания придатков матки ($p < 0,05$), инфекции, передающиеся половым путем (ИППП) ($p < 0,05$), а также указания на перенесенные операции на внутренних женских половых органах в связи с патологией, не связанной с эндометриозом ($p < 0,05$), что совпадает с имеющимися литературными данными (Н. J Park et al., 2016; Т.Н. Бебнева и соавт., 2019).

Эмоциональный стресс, вызванный персистенцией или рецидивированием боли, страх, связанный с риском повторного оперативного вмешательства, нереализованные репродуктивные планы и социальные потребности инициируют тревожные расстройства и депрессию (S. Simoens et al., 2012; К. Nnoaham et al., 2011; N.J. Verket et al., 2018). Указанные факты способствуют нарушению пищевого поведения и, как следствие, снижению массы тела.

При оценке индекса массы тела установлено, что у пациенток группы 3 он составил 21,1 [19,8;23,6], что статистически значимо ниже по сравнению с пациентками без рецидива заболевания - 24,5 [21,4;28,7] ($p < 0,01$) и совпадает с мнением иностранных исследователей (М.М. Zolbin et al., 2019; Sarah J. Holdsworth-Carson et al., 2018). У пациенток второй группы ИМТ 23,1 [19,5;27,2] и не имел статистически значимых различий по сравнению с пациентками двух других групп ($p > 0,05$).

Согласно литературным сведениям, для пациенток с рецидивом эндометриозных кист яичников характерно более частое наличие экстрагенитальной патологии (М.Р. Оразов и соавт., 2016). В собственном исследовании в группе женщин, имеющих впоследствии рецидив эндометриоза после первичного хирургического лечения, статистически

значимо чаще встречались заболевания желудочно-кишечного тракта ($p < 0,05$).

Всем пациенткам на дооперационном этапе было выполнено УЗИ органов малого таза с целью оценки размеров эндометриоидных кист, толщины капсулы и выраженности кровотока в стенке патологического образования.

При изучении протоколов ультразвукового исследования оказалось, что у женщин, имеющих в последующем рецидив эндометриом, чаще диагностировались двусторонние опухоли яичников (в группе без рецидива заболевания у 20,6% пациенток, в группе с рецидивом у 42,1%, $p < 0,05$). Интересен установленный факт, что размер образования слева у пациенток, прооперированных по поводу уже случившегося рецидива заболевания был статистически значимо меньше по сравнению с левосторонним образованием в группе без рецидива заболевания ($p < 0,05$).

Что касается толщины капсулы и выраженности кровотока, то в собственных исследованиях статистически значимых различий по данным параметрами у пациенток групп исследования не установлено.

В ходе настоящей работы для уточнения характера взаимосвязи между уровнем АМГ в периферической крови и объемом поражения был проведен корреляционный анализ Спирмена. Установлено, что у пациенток с двусторонними эндометриоидными кистами уже на дооперационном этапе уровень АМГ был ниже, по сравнению с пациентками с односторонними опухолями ($p < 0,05$), что подтверждает гаметотоксическое воздействие содержимого эндометриом (J.S. Younis et al., 2019; L. Muzii et al., 2018; Е.С. Филипова и соавт., 2018; И.В. Сахаутдинова и соавт., 2017).

Также всем пациенткам, участвующим в исследовании, на дооперационном этапе проводили оценку уровня СА-125 в периферической крови. Оказалось, что средние показатели исследуемого параметра были статистически значимо выше у пациенток, имеющих в последующем рецидив эндометриомы, по сравнению с пациентками без рецидива патологического образования и составили 62,5 [40,7; 112,3] Е/л ($p < 0,05$).

У пациенток, имеющих впоследствии рецидив эндометриоидных кист яичников, при анализе протоколов первичного оперативного вмешательства были выявлены следующие интраоперационные особенности:

- чаще встречались двусторонние эндометриомы ($p < 0,05$);

- у большинства пациенток имели место малые формы эндометриоза на контрлатеральном яичнике при односторонних эндометриоидных кистах ($p < 0,05$) и перитонеальные формы эндометриоза ($p < 0,01$);
- чаще встречались инфильтративные формы эндометриоидной болезни, а именно ретроцервикальный эндометриоз ($p < 0,05$);
- имел место спаечный процесс 3 и 4 степени выраженности ($p < 0,01$).

Полученные данные совпадают с известными литературными сведениями (Т. Tobiume et al., 2016; A.I Guzel et al., 2014).

Одним из основных фрагментов нашей работы явился сравнительный иммунологический анализ перитонеальной жидкости пациенток групп исследования, в процессе которого определялись концентрации IL-6, IL-8, TNF α , IL-1 β , IL-17, VEGF, MCP 1.

Было установлено, что средние значения исследуемых маркеров перитонеальной жидкости у пациенток без рецидива составили для IL-6 36,11 [15,66; 74,06] пг/мл, IL-8 - 35,49 [9,02; 97,39] пг/мл, TNF α - 0,92 [0,81; 1,16] пг/мл, IL-1 β - 0,7 [0,38; 1,15] пг/мл, IL-17 - 10,19 [0; 18] пг/мл, VEGF - 112,4 [78,8; 160,18] пг/мл, MCP 1 - 235,2 [137,24; 437,5] пг/мл.

В группе женщин, имеющих впоследствии рецидив эндометриом, изучаемые показатели статистически значимо превышали аналогичные по сравнению с пациентками без рецидива заболевания и имели следующие значения: IL-6 - 126,59 [87,7; 560,7] пг/мл ($p < 0,001$), IL-8 - 1255,9 [537,54; 1739,3] пг/мл ($p < 0,001$), TNF α - 2,4 [1,1; 4,5] пг/мл ($p < 0,001$), IL-1 β - 4,65 [1,08; 55,36] пг/мл ($p < 0,001$), IL-17 - 18,93 [8,25; 42,96] пг/мл ($p < 0,05$), VEGF - 288,9 [176,83; 562,16] пг/мл ($p < 0,001$), MCP 1 - 729,32 [416,67; 1398,3] пг/мл ($p < 0,001$).

У пациенток, прооперированных в ходе настоящего исследования по поводу рецидива эндометриоидных кист яичников, средние значения исследуемых цитокинов в перитонеальной жидкости составили: IL-6 - 106,46 [58,026; 280,56] пг/мл, IL-8 - 34,75 [7,56; 135,58] пг/мл, TNF α - 0,786 [0,677; 1,179] пг/мл, IL-1 β - 0,83 [0,45; 0,89] пг/мл, IL-17 - 2,25 [0; 12,75] пг/мл, VEGF - 134,66 [89,6; 199,03] пг/мл, MCP 1 - 384,62 [172,96; 647,87] пг/мл. При сравнительном анализе полученных данных между пациентками анализируемой группы и женщинами без рецидива эндометриом установлены статистически значимо высокие значения лишь для IL-6 ($p < 0,05$), что связано, по-видимому, с проведением гормональной терапией перед оперативным вмешательством.

Полученные данные совпадают с современными исследованиями, в которых как возможный патогенетический механизм прогрессирования и рецидивирования эндометриоидной болезни рассматривается усиленная

ангиогенная и пролиферативная активность иммунокомпетентных клеток перитонеальной жидкости (Н. Г. Сазонова и соавт., 2017; Т.В. Чантурия, 2018; И.В. Маркарян и соавт., 2015; А.Р. Пыдра и соавт., 2011).

При оценке полученных данных методом главных компонент установлено, что существенный вклад в формирование рецидива эндометриоидных кист яичников после проведенного хирургического лечения вносит первая компонента (28,344%), среди которой наибольшее значение имеют IL-6, IL-1 β и VEGF.

Вклад второй компоненты составляет 24,718%, третьей - 24,386%. В представленных компонентах наибольший вес имеют IL-8, MCP-1 и TNF α и IL-17 соответственно.

Для более углубленной оценки иммунологических показателей перитонеальной жидкости в отношении выбора наиболее патогенетически значимых в прогнозе развития рецидива эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения, мы сочли необходимым прибегнуть к ROC-анализу (таблица 1):

Таблица 1.

ROC-анализ исследуемых иммунологических показателей перитонеальной жидкости

Название цитокина	AUC ROC	ДЧ, %	ДС, %	ППЗ, %	ОПЗ, %	ДЭ, %	Пороговое значение, пг/мл
IL-6	0,849 (0,740-0,959)	100	67,7	59,8	100	78	58,124
VEGF	0,875 (0,778-0,973)	100	71	61,7	100	79,8	125,6
IL-1 β	0,809 (0,657-0,960)	66,7	90,3	76,3	84,8	82,4	1,81
TNF α	0,832 (0,704-0,961)	60	93,5	89,1	82,8	82,4	1,725
IL-8	0,953 (0,896-1,009)	93,3	87,1	77,7	96	88,9	128,78
IL-17	0,723 (0,566-	40	96,8	85,7	76,9	78,3	30,22

	0,880)						
МСП 1	0,828(0,707-0,949)	80	74,2	60	88,5	76,1	411,1

Из представленных в таблице данных видно, что наибольшими диагностическими характеристиками обладает содержание VEGF (AUC ROC 0,875, чувствительность 100%, специфичность 71%, диагностическая эффективность 79,8%) и IL-8 (AUC ROC 0,953, чувствительность 93,3%, специфичность 87,1%, диагностическая эффективность 88,9%) в перитонеальной жидкости, что позволяет нам рекомендовать определять уровни данных цитокинов для прогнозирования развития рецидива эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения.

Для исключения ложных результатов нами был выбран дополнительно цитокин, обладающий наибольшей специфичностью.

Оказалось, что среди всех исследуемых параметров наиболее высокой специфичностью обладают уровни TNF α (специфичность 93,5%) и IL-17 (специфичность 96,8%) в перитонеальной жидкости, однако TNF α обладает более высокой площадью под ROC-кривой – AUC ROC 0,832 и диагностической эффективностью – 82,4% по сравнению с IL-17 (AUC ROC 0,723, диагностическая эффективность 78,3%), что позволяет нам дополнительно использовать указанный цитокин для подтверждения или опровержения возможного риска рецидива заболевания.

Для оценки взаимосвязи между парами выбранных параметров (VEGF-TNF α и IL-8-TNF α) был проведен корреляционный анализ Спирмена (таблица 2).

Таблица 2.

Корреляция Спирмена

Наименование цитокина	IL-6	IL-8	TNF α	IL-1 β	IL-17	VEGF	МСП 1
VEGF	0,589	0,325	0,061	0,511	0,025	1	0,093
IL-8	0,550	1	0,618	0,761	0,464	0,325	0,457

Согласно представленной таблице между содержанием IL-8 и TNF α в перитонеальной жидкости установлена значимая корреляционная взаимосвязь (0,618 - $p < 0,05$), в то время как между VEGF и TNF α выявлена незначительная корреляционная взаимосвязь – 0,061, что позволяет утверждать, что эти 2 цитокина независимы друг от друга.

Таким образом, при экспрессии в перитонеальной жидкости VEGF 125,6 пг/мл и выше с точностью 79,8% и при уровне TNF α 1,725 пг/мл и

более с точностью 82,4% мы можем прогнозировать риск развития рецидива эндометриомы после хирургического лечения. На основании полученных данных разработан способ прогнозирования рецидива эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения (заявка на изобретение № 2021109835 от 09.04.2021).

В рамках настоящего исследования дополнительно проведен морфологический и ИГХ-анализ капсулы образования.

При подсчете количества фибробластов в капсуле эндометриоидной кисты выявлено, что у пациенток без рецидива их среднее значение ($M \pm m$) составило $48,78 \pm 16,62\%$ от общей клеточной массы, в группе с последующим рецидивом заболевания $42,27 \pm 13,79\%$, у пациенток, прооперированных по поводу уже произошедшего рецидива эндометриомы, $56,2 \pm 14,54\%$ ($p > 0,05$).

При оценке соотношения стромы/эпителиальный компонент установлено, что в группах с рецидивом эндометриоидных кист яичников после оперативного вмешательства (N2 и N3) это соотношение ниже по сравнению с пациентками без рецидива эндометриоидных кист яичников ($p < 0,05$).

Так же обнаружено, что у пациенток с рецидивом заболевания стенка образования состоит из цитогенной стромы, эпителиальная выстилка представлена призматическим эпителием с обильными отложениями гемосидерина ($p < 0,05$), в то время как капсулы эндометриоидных кист у пациенток без последующего рецидива характеризовались отсутствием эпителиальной выстилки, либо она была представлена очагово с признаками атрофии, а в субэпителиальной строме фиксировались мелкие единичные лимфогистиоцитарные инфильтраты.

При анализе экспрессии ИГХ-маркера пролиферации Ki67 была выявлена низкая пролиферативная активность эпителиальных клеток в капсуле эндометриоидных кист, склонных к рецидиву – $0,1 [0; 0,375] \%$, что не имеет статистически значимых отличий по сравнению с пациентками двух других групп. Проллиферативный потенциал в капсуле новообразования женщин, прооперированных по поводу уже случившегося рецидива, статистически значимо превышал аналогичный показатель по сравнению с группой без рецидива заболевания и составил $0,333 [0; 0,813] \%$ ($p < 0,01$).

Для анализа процессов апоптоза мы проводили оценку уровня супрессора образования опухолей – белка P53 в капсуле патологического образования. При обработке полученных данных статистически значимых

различий в исследуемых группах не получено (N1=1 [0,25; 2] %, N2=0,75 [0,06; 1,58]%, N3=1 [0,36; 1,64]%).

Для установления наличия сосудистой сети, степени ее развития и топографии кровеносных сосудов проведена оценка ИГХ-маркеров VEGF и CD34 в капсуле эндометриоидных кист. Установлено, что их экспрессия у пациенток с рецидивом заболевания превышает аналогичные показатели у женщин без рецидива эндометриом ($p < 0,05$).

В нашем исследовании так же установлено, что для рецидивирующих эндометриоидных кист характерна более выраженная капиллярная сеть в фиброзном компоненте капсулы образования ($p < 0,05$) и выраженный артериальный, венозный и капиллярный кровоток в стромальной части патологического образования по сравнению с пациентками без рецидива заболевания ($p < 0,05$).

Полученные результаты совпадают с современными литературными данными, согласно которым для эндометриоидных имплантов характерен высокий уровень ангиогенеза, что способствует усилению их пролиферативного потенциала и составляет одну из основ инвазивного роста (A.I. Rocha et al., 2013; Н.Г. Сазонова и соавт., 2017).

Для более углубленной оценки диагностической эффективности иммуногистохимических показателей и их вклада в патогенез рецидива эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения, мы прибегнули к построению ROC-кривой (таблица 3).

Таблица 3.

**ROC-анализ значимых иммуногистохимических показателей
капсулы эндометриоидных кист**

ИГХ-маркер	AUC ROC	ДЧ, %	ДС, %	ППЗ, %	ОПЗ, %	ДЭ, %	Пороговое значение, %
CD34	0,844 (0,683-1)	90	75	69,2	92,3	80,8	2,5
VEGF	0,787 (0,626-0,947)	63,6	87	66,7	80	76,7	2,5

При анализе исследуемых показателей выявлено, что наибольшей диагностической чувствительностью, эффективностью и AUC ROC обладает экспрессия показателя CD34 – 90%, 80,8% и 0,844

соответственно, что позволяет использовать данный маркер для оценки степени выраженности сосудистой сети в капсуле эндометриoidных кист и расценивать его как один из факторов риска возможного рецидива эндометриом после оперативного лечения.

Таким образом, в проведенном клинико-лабораторном исследовании научно обоснованы существенные патогенетические факторы прогноза рецидива эндометриoidных кист яичников. У женщин с рецидивом эндометриoidных кист яичников статистически значимо чаще имеет место низкий индекс массы тела, патология желудочно-кишечного тракта, сочетание эндометриом с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий, ИППП, изначально высокий уровень СА-125, а также большая степень распространенности патологического процесса (двусторонние эндометриoidные кисты, наличие перитонеального эндометриоза, ретроцервикальный эндометриоз, выраженный спаечный процесс).

Доказано, что для оценки риска развития рецидива эндометриoidных кист после хирургического вмешательства необходимо комплексное определение уровня VEGF и TNF α в перитонеальной жидкости пациенток, а также анализ морфологических (меньшее соотношение стромы/эпителиальный компонент, стенка образования состоит из цитогенной стромы, эпителиальная выстилка представлена призматическим эпителием с отложениями гемосидерина, выраженная капиллярная сеть в фиброзном компоненте образования и выраженный артериальный, венозный и капиллярный кровоток в стромальном компоненте эндометриомы) и иммуногистохимических особенностей (повышенная экспрессия CD34 и VEGF) капсулы новообразования.

Учитывая выявленные в ходе проведенного научного исследования факторы риска рецидива эндометриoidных кист яичников, патогенез этого осложнения можно представить следующим образом.

Выявленные нами факторы риска, а именно хронические воспалительные процессы придатков матки, ИППП, хроническая патология желудочно-кишечного тракта оказывают негативное воздействие на репродуктивную систему путем снижения устойчивости организма к различным повреждающим факторам, экзо- и эндотоксинам, способствуют локальным повреждениям брюшины малого таза, активации генов воспаления, вероятно на фоне генетически ослабленной системы детоксикации ксенобиотиков (J. N. Painter et al., 2011)

При попадании в чужеродную среду эндометриальные клетки вызывают активацию местных защитных сил в виде роста количества макрофагов, активированных Т-лимфоцитов (Y. Osuga et al., 2011; A.

Sarobianco et al., 2013), однако иммунный ответ носит неэффективный характер за счет увеличения содержания провоспалительных цитокинов и факторов роста, нарушения соотношения про- и противовоспалительных цитокинов, усугубляющейся на фоне повышенной провоспалительной и ангиогенной активности эндометриальных клеток, что было продемонстрировано и в собственных исследованиях (повышение уровня IL-6, IL-8, IL-1 β , IL-17, TNF α , VEGF, MCP 1 в перитонеальной жидкости и экспрессии CD34 и VEGF в капсуле патологического образования) (J. Sikora, 2011; J. C. Lousse et al., 2012; И. В. Маркармян, 2015; Т. Н. Бебнева и соавт., 2019; Q.J. Hudson et al., 2020), увеличения концентрации простагландинов из-за усиления активности фермента циклооксигеназы 2 типа (ЦОГ2) в условиях локальной гиперэстрогении (Л.В. Адамян и соавт., 2020), нарушения процессов апоптоза (усиленный апоптоз иммунокомпетентных клеток с одной стороны и подавление апоптоза макрофагов с другой) (А.А. Гришкина и соавт., 2019; И.Л. Фролова и соавт., 2019; R.O. Burney et al., 2019).

Таким образом, в условиях воздействия разнообразных повреждающих факторов на фоне генетически ослабленной системы детоксикации ксенобиотиков, агрессивного поведения эндометрия, неадекватного ответа иммунной системы эндометриальные клетки, попав в чужеродную среду, не элиминируются, а продолжают свой жизненный цикл.

Очевидно, что тщательный диагностический процесс с выявлением прогностических факторов риска рецидива эндометриом позволит разработать персонализированный подход к ведению пациенток после первичного хирургического вмешательства.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток с рецидивом эндометриоидных кист яичников после хирургического вмешательства имеет место более низкий индекс массы тела, чаще встречаются соматические заболевания, а именно патология желудочно-кишечного тракта, а также хронические воспалительные заболевания придатков, ИППП и перенесенные операции на внутренних половых органах в связи с патологией, не связанной с эндометриозом.
2. У пациенток с рецидивирующими эндометриоидными кистами чаще имеют место двусторонние эндометриомы, инфильтративные (ретроцервикальный эндометриоз) и малые формы (перитонеальный эндометриоз, гетеротопии на

- контрлатеральном яичнике) эндометриоидной болезни, а также выраженный спаечный процесс.
3. У пациенток, имеющих впоследствии рецидив новообразования после проведенного хирургического лечения зафиксировано более высокое значение СА-125 в периферической крови, а в перитонеальной жидкости выявлены высокие концентрации IL-6, IL-8, IL-1 β , IL-17, TNF α , VEGF, MCP 1. Установлено, что наибольшую значимость в прогнозе рецидива имеет уровень VEGF. Так, при его значении 125,6 пг/мл и выше с точностью 79,8% (чувствительность 100%, специфичность 71%) следует прогнозировать развитие рецидива эндометриоидных кист после органосохраняющего оперативного лечения. Для исключения ложных результатов необходимо дополнительное определение концентрации TNF α , как показателя, имеющего наибольшую специфичность (93,5%) и наименьшую корреляцию с VEGF. При уровне TNF α 1,725 пг/мл и более с точностью 82,4% следует утверждать о наличии высокого риска рецидива заболевания после хирургического лечения.
 4. Морфологическими особенностями капсулы эндометриоидной кисты при рецидиве заболевания являются меньшее соотношение строма/эпителиальный компонент, наличие цитогенной стромы, присутствие эпителиальной выстилки в виде призматического эпителия с отложениями гемосидерина.
 5. В капсуле эндометриоидных кист, склонных к рецидиву, имеется повышение экспрессии маркеров ангиогенеза (CD34 и VEGF) и пролиферации (Ki67). Однако, наибольшая диагностическая эффективность принадлежит CD34. При его экспрессии 2,5% и более с точностью 80,8% следует прогнозировать рецидив заболевания (чувствительность 90%, специфичность 75%).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью прогнозирования развития рецидива эндометриоидных кист яичников после хирургического вмешательства необходима комплексная оценка клинико-anamnestических характеристик каждой пациентки. Так, на возможность возникновения данного осложнения указывают низкий индекс массы тела, патология желудочно-кишечного тракта, хронические воспалительные заболевания придатков, ИППП, повышение уровня СА-125, а также распространенность патологического процесса во время

- проведения первичного хирургического вмешательства (двусторонние эндометриоидные кисты, наличие перитонеального эндометриоза, ретроцервикальный эндометриоз, выраженный спаечный процесс).
2. В процессе хирургического вмешательства необходимо проводить забор перитонеальной жидкости для определения уровня VEGF и TNF α . Так, при значении VEGF 125,6 пг/мл и более с точностью 79,8%, чувствительностью 100%, специфичностью 71% следует предположить возможный рецидив эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения. Для исключения ложных результатов необходимо дополнительно определить концентрацию TNF α в перитонеальной жидкости и при его уровне 1,725 пг/мл и выше с точностью 82,4% следует утверждать о наличии высокого риска рецидива заболевания после оперативного лечения.
 3. При морфологическом исследовании удаленных эндометриом необходимо обращать внимание на следующие структурные особенности, имеющие прогностическое значение в развитии рецидива ЭК: меньшее соотношение строма/эпителиальный компонент, цитогенная строма, эпителиальная выстилка представлена призматическим эпителием с отложениями гемосидерина. Кроме гистологического исследования нужна оценка иммуногистохимического маркера ангиогенеза CD34. При его значении 2,5% и более с точностью 80,8%, чувствительностью 90%, специфичностью 75% следует прогнозировать рецидив заболевания.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации научных результатов диссертаций

1. Качалина, Т. С. Комплексная оценка факторов риска развития рецидива эндометриоидных кист яичников / Т. С. Качалина, А. Н. Зиновьев, **М. Е. Богатова** // Медицинский альманах. – 2017. – № 1. – С. 107–110.
2. Онкологические аспекты эндометриоза гениталий / Т. С. Качалина, М. С. Зиновьева, А. Н. Зиновьев, **М. Е. Богатова** // Лечащий врач. – 2017. – № 5. – С. 61–66.

3. Факторы риска рецидива эндометриоидных кист яичников после хирургического лечения: ретроспективное когортное исследование / Т.С. Качалина, **М.Е. Богатова**, С.С. Кузнецов, В.Ф. Лазукин // Сеченовский вестник. – 2020. – Т. 11, №4. – С. 60-71

Публикации в других сборниках

1. Качалина, Т. С. Рецидивы эндометриоидных кист: факторы риска и профилактика / Т. С. Качалина, А. Н. Зиновьев, **М. Е. Зяблова** // Эффективная фармакотерапия. Акушерство и гинекология. – 2016. – № 14 (1-2). – С. 6–10.
2. Эффективность восстановления репродуктивной функции у женщин с эндометриоидными кистами яичников и бесплодием после хирургического и комбинированного методов лечения / А.Н. Зиновьев, **М.Е. Богатова**, А.Ю. Симкина, Д.Д. Платова // Медиаль : электронный научно-практический журнал. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 41. – URL: <https://www.medial-journal.ru/jour/article/view/72/73>. – Дата публикации: март 2017. (дата обращения: 15.10.2019).
3. **Богатова, М.Е.** Риски рецидива эндометриоидных кист яичников/ М.Е. Богатова // Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии : тезисы XI-го общероссийского научно-практического семинара (Сочи, 8-11 сент. 2018 г.). – М. : Изд-во «Медиабюро Статус презенс». – С. 34-35
4. **Богатова, М.Е.** Особенности анамнеза и репродуктивного потенциала женщин с эндометриоидными кистами и бесплодием / М.Е. Богатова // Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии : тезисы XII-го общероссийского научно-практического семинара (Сочи, 13-15 сент. 2019 г.) – М. : Изд-во «Медиабюро Статус презенс», 2019. – С. 55.
5. **Богатова, М.Е.** Иммунологические особенности перитонеальной жидкости пациенток с эндометриоидными кистами яичников / М.Е. Богатова // Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии : тезисы XII-го общероссийского научно-практического семинара (Сочи, 13-15 сент. 2019 г.). – М. : Изд-во «Медиабюро Статус презенс», 2019. – С. 54.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМГ – антимюллеров гормон

ВАШ – визуально-аналоговая шкала

ИМТ – индекс массы тела

ИППП – инфекции, предающиеся половым путем

ЦОГ 2 – циклооксигеназа 2 типа

ЭК – эндометриоидная киста

AUC ROC – area under receiver operating characteristic curve, площадь под ROC-кривой

CA-125 – carbohydrate antigen – 125, углеводный антиген – 125

IL-17 – interleukin 17, интерлейкин 17

IL-1 β – interleukin 1 beta, интерлейкин 1 бета

IL-6 – interleukin 6, интерлейкин 6

IL-8 – interleukin 8, интерлейкин 8

MCP-1 – monocyte chemotactic protein 1, моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1

TNF α – tumor necrosis factor α , фактор некроза опухоли альфа

VEGF – vascular endothelial growth factor, сосудистый эндотелиальный фактор роста

БОГАТОВА МАРИНА ЕВГЕНЬЕВНА
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РЕЦИДИВА
ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ КИСТ ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ
ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать
Формат
Печать плоская. Усл. печ. Л
Тираж №
Заказ