

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

На правах рукописи

АЛЬМОВА

Индира Курманбиевна

**КЛИНИКО–МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
И ЭКСПРЕССИЯ МИКРО РНК У БОЛЬНЫХ
РЕТРОЦЕРВИКАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Хилькевич Е.Г.

кандидат химических наук

Бобров М.Ю.

Москва, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Глава 1. РЕТРОЦЕРВИКАЛЬНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (обзор литературы)	12
1.1 Эпидемиологические аспекты и теории происхождения эндометриоза	12
1.2 Классификация наружного генитального эндометриоза.....	14
1.3 Клиническая характеристика и диагностика ретроцервикального эндометриоза	18
1.4 Возможности ранней диагностики ретроцервикального эндометриоза на основе изучения микроРНК	22
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1 Дизайн исследования	31
2.2 Клинико-инструментальное обследование больных ретроцервикальным эндометриозом.....	33
2.3 Специальные методы исследования.....	37
2.3.1 Транскриптомный анализ	39
2.3.2 Биоинформационная обработка данных	41
2.3.3 Статистический анализ данных.....	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	44
3.1 Клиническая характеристика обследованных больных ретроцервикальным эндометриозом.....	44
3.2 Результаты клинико - инструментальных методов исследования.....	59
3.3 Хирургическое лечение больных ретроцервикальным эндометриозом.....	76
3.4 Результаты морфологического исследования ретроцервикального эндометриоза...	81
3.5 Исследование дифференциальной экспрессии микроРНК	88
3.6 Оценка специфичности экспрессии miR-143-3p и miR-200a-3p в эутопическом эндометрии при ретроцервикальном эндометриозе.....	93
3.7 Транскриптомный анализ экспрессии генов в тканях эндометрия.....	96
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	101
ВЫВОДЫ.....	133
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	135
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	136
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	138
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	164

3
ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Эндометриоз - патологический процесс, при котором за пределами слизистой оболочки тела матки определяется ткань, напоминающая поверхностный эпителий эндометрия, эндометриальные железы и строму [1, 2, 3, 4, 5]. Такая атипическая ткань эндометрия может подвергаться тем же циклическим изменениям, что и нормальный эндометрий. В 1921 году Sampson дал одно из точных описаний эндометриоза и в 1925 году предложил термин "эндометриоз" в клинической практике [1, 6, 7].

Наибольшие функциональные и структурные изменения отмечаются при глубоком инфильтративном эндометриозе, сопровождающемся вовлечением в процесс нерепродуктивных органов [8, 9].

Понятие «распространенный эндометриоз» подразумевает массивное и глубокое расположение эктопического очага, обычно захватывающего область Дугласова пространства, ткани передней стенки прямой кишки, задней стенки влагалища, матки, крестцово-маточных связок. Это приводит к облитерации позадматочного пространства с изменением его анатомии [1, 10]. Следует заметить, что эндометриоз ретроцервикальной клетчатки (инфильтративная форма) крайне редко встречается как самостоятельная локализация, сочетаясь с эндометриозом брюшины малого таза, яичников и/или аденомиозом, вовлекая в процесс кишечник и органы мочевыводящих путей [11].

По различным данным, эндометриоз диагностируется у 6-10% женщин репродуктивного возраста, что превышает 175 миллионов женщин [12]. При этом негативная тенденция сложилась не только в России, но и в мире, где эндометриоз вошел в пятерку самых распространенных гинекологических заболеваний - сразу за доброкачественными заболеваниями шейки матки, расстройствами менструального цикла,

воспалительными заболеваниями шейки матки, урогенитального тракта и бесплодием [1, 54].

Важными клиническими проявлениями наружного генитального эндометриоза являются: болевой синдром, бесплодие и расстройство функции тазовых органов [13, 14]. Боль, возникнув вследствие повреждающего действия эндометриоза, приводит к серьезным нарушениям в системе регуляции болевой чувствительности, вызывает психологические расстройства, формирует у женщин особую форму "болевого поведения", которое может сохраниться даже после оперативного лечения [15, 16, 17, 18]. Первичным звеном в диагностике РЦЭ остается гинекологическое исследование [19]. Ранняя диагностика ретроцервикального эндометриоза сложна, так как клиническая картина вариабельна, доступные инструментальные методы исследования, в том числе ТВУЗИ и МРТ являются малочувствительными на ранних стадиях заболевания [20, 21, 22, 23]. В настоящее время, не существует специфических иммуногистохимических, молекулярных и морфологических методов скрининга эндометриоза [19, 24, 25].

Большое количество исследований посвящено изучению роли микроРНК при эндометриозе, играющих важную роль в регуляции активности генов и их продуктов на посттранскрипционном уровне [26, 27, 28, 29, 30, 31, 32].

Все вышеизложенное определяет актуальность и перспективность темы, включающей в себя выбор диагностической тактики, основанной на комплексе клиничко – морфологических, инструментальных и молекулярных исследований у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время, известно большое количество теорий возникновения эндометриоза [1]. Особое внимание уделяется клинико – патогенетическим особенностям в диагностике наружного генитального эндометриоза. За последние несколько лет опубликованы многочисленные исследования, посвященные особенностям экспрессии микроРНК при наружном генитальном эндометриозе [21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28]. МикроРНК способны связываться с полимеразами нуклеиновых кислот как ДНК-зависимыми, так и РНК-зависимыми, останавливая процессы транскрипции, вызывать деградацию микроРНК на посттранскрипционном уровне, угнетение синтеза продуктов гиперэкспрессированных генов, таких как онкогенов, в том числе – регуляторов экспрессии генов (регуляторов транскрипции), быть специфическими маркерами активности патологических процессов. Основными свойствами микроРНК являются: контроль и регуляция развития организма начиная с эмбриогенеза, дифференциации и роста клеток, тканей и отдельных органов; контроль самоидентификации стволовых клеток; регуляция процессов пролиферации и апоптоза, иммуногенеза, ангиогенеза, фиброза; участие в сигнальных системах клетки, координация нервной и эндокринной систем, стабилизация метаболизма низкомолекулярных соединений (аминокислот, липидов, глюкозы, фосфатов) и клеточного осмотического давления; установление стабильных процессов взаимодействия «белок-белок» у человека. Изменения профиля микроРНК выявлены при различных патологических процессах, включая стресс, воспаление, онкогенез [33, 34, 35, 36, 37].

МикроРНК остается не до конца изученной при эндометриозе и поэтому заслуживает более глубокого исследования с целью определения уровня экспрессии и генов-мишеней, которые могут стать ключевыми биомаркерами в раннем скрининге, а также при разработке панели предикторов ретроцервикального эндометриоза.

Вышеизложенное свидетельствует о целесообразности изучения клинико-диагностических характеристик ретроцервикального эндометриоза, внедрения полученных результатов в клиническую практику.

Цель исследования

Оптимизировать диагностику ретроцервикального эндометриоза на основе изучения клинико - морфологических характеристик, инструментальных методов исследования, оценки экспрессии генов и микроРНК в тканях эктопического, эутопического эндометрия и плазме крови.

Задачи исследования

1. Провести анализ клинико-anamнестических и клинико-морфологических данных у больных ретроцервикальным эндометриозом
2. Оценить диагностическую информативность инструментальных методов исследования у больных ретроцервикальным эндометриозом
3. Провести сравнительный анализ экспрессии генов и микроРНК в эутопическом, эктопическом эндометрии и плазме крови у больных ретроцервикальным эндометриозом.
4. Провести биоинформационный анализ путей внутриклеточной сигнализации, регулируемых дифференциально экспрессированными генами и генами-мишенями дифференциально экспрессированных микроРНК.
5. Оптимизировать алгоритм диагностики ретроцервикального эндометриоза на основании клинико-морфологических данных, инструментальных и молекулярных методов исследования.

Научная новизна

Впервые посредством секвенирования выявлены дифференциально экспрессирующиеся микроРНК в эктопическом эндометрии у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом.

Показаны отличия в экспрессии микроРНК в эктопическом эндометрии больных эндометриозом и без данного заболевания.

Расширено теоретическое представление о патогенезе эндометриоза на основе анализа биоинформационных баз данных и изучения генов-мишеней, регулируемых выявленными дифференциально экспрессирующимися микроРНК, участвующих в процессах дифференцировки и жизнеспособности клеток, воспаления и окислительного стресса.

Практическая значимость

Показана значимость клинико-морфологических, инструментальных и молекулярно-биологических критериев в диагностике ретроцервикального эндометриоза.

Уточнена диагностическая информативность ТВУЗИ, МРТ и колоноскопии при ретроцервикальном эндометриозе.

Установлено, что повышение экспрессии hsa-miR-143-3p характерно для эндометриоза, тогда как повышение экспрессии hsa-miR-200a-3p свидетельствует о наличии таких пролиферативных заболеваний матки, как миома и полип эндометрия. В тканях эктопического эндометрия больных эндометриозом выявлены дифференциально экспрессированные гены, которые могут быть потенциальными маркерами данной патологии.

Методология и методы исследования

Работа выполнена на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН Г.Т. Сухих). Клиническая часть работы выполнена в хирургическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП

им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – к.м.н. В.Д. Чупрынин). Молекулярное исследование биологических образцов осуществлялось в лаборатории молекулярной патофизиологии клеток ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – к.х.н. М.Ю. Бобров). Патоморфологическое исследование проводилось в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – д.м.н., проф. А.И. Щеголев).

В исследование включено 180 пациенток, обратившихся в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России за период 2016-2018 гг. Все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено экспертной комиссией ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по вопросам медицинской этики.

В ходе выполнения исследования использованы клинические, инструментальные, лабораторные, аналитические и статистические методики. Специальные методы включали: молекулярный анализ плазмы крови, эктопического и эутопического эндометрия, идентификация микроРНК и их генов-мишеней.

Положения, выносимые на защиту

1. Клинические проявления ретроцервикального эндометриоза характеризуются значительным полиморфизмом и неспецифичностью симптомов. Характерно сочетание болевого синдрома (тазовая боль, диспареуния, дисхезия, дисменорея) и отягощенного соматического анамнеза (заболевания желудочно–кишечного тракта и соматоформная дисфункция вегетативной нервной системы). Ретроцервикальный эндометриоз морфологически характеризуется пролиферацией, деструкцией тканей и/или разрастанием нервных ганглиев.

2. Ультразвуковое исследование органов малого таза, магнитно-резонансная томография и колоноскопия являются информативными,

взаимодополняющими методами исследования, позволяющими установить локализацию, размеры эндометриоидного инфильтрата и степень инвазии ретроцервикального эндометриоза.

3. В результате сравнительного анализа экспрессии микроРНК в эутопическом эндометрии у больных эндометриозом, миомой матки и полипом эндометрия, а также у пациенток без данных патологий установлено, что повышение экспрессии hsa-miR-143-3p свидетельствует о наличии для эндометриоза, тогда как повышение экспрессии hsa-miR-200a-3p характерно для всех трех патологий: эндометриоза, миомы матки и полипа эндометрия.

4. Установлена дифференциальная экспрессия генов и микроРНК в образцах очагов ретроцервикального эндометриоза относительно парных и непарных образцов эутопического эндометрия. В результате биоинформационного анализа установлено, что дифференциально экспрессированные при эндометриозе гены и гены-мишени микроРНК принимают участие в регуляции патогенетических процессов клеточного деления, морфогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода и воспаления. Идентифицированные микроРНК, а также гены с наибольшими изменениями экспрессии в эутопическом эндометрии больных эндометриозом могут быть использованы в качестве маркеров для формирования диагностической панели данного заболевания.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в выборе темы исследования и ее методологической структуры, разработке цели и задач, обобщении, анализе, научной интерпретации и статистической обработке полученных результатов исследования. Диссертант самостоятельно производила забор биологического материала. Автор участвовала в

операциях в качестве ассистента, проводила медикаментозное лечение и реабилитацию больных в послеоперационном периоде.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4, 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается количеством пациенток включенных в исследование (180 пациенток), использованием современных методов исследования, соответствующих цели и задачам. Выводы и практические рекомендации закономерно вытекают из результатов исследования и подтверждают положения, выносимые на защиту.

Апробация результатов исследования

Апробация диссертации была проведена на межклинической конференции (29 мая 2019 г.) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России (24 июня 2019 г., протокол №8).

Результаты исследований диссертационной работы доложены и обсуждены на: XVII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Москва 2017); EBCOG - на XXVI Европейском конгрессе European Congress of the European Board & College of Obstetrics and Gynecology (Франция, 2018); XIX Всероссийском научно-образовательном

форуме «Мать и Дитя» (Москва 2018, 2019); XIII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва 2019).

Внедрение результатов исследования в практику

Практические рекомендации диссертационного исследования используются в работе хирургического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий - к.м.н. Чупрынин В.Д).

По теме диссертации опубликованы 4 печатные работы в журналах, рекомендуемых ВАК, а также учебное пособие «Глубокий инфилтративный эндометриоз с вовлечением влагалища и/или толстой кишки».

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, 2 приложений. Работа представлена на 170 страницах, иллюстрирована 21 таблицей, 31 рисунком. Библиографический указатель включает 277 работы цитируемых авторов, из них 23 - на русском и 254 - на иностранных языках.

Глава 1. РЕТРОЦЕРВИКАЛЬНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (обзор литературы)

1.1 Эпидемиологические аспекты и теории происхождения эндометриоза

Эндометриоз характеризуется доброкачественным разрастанием эндометриоидной ткани за пределами полости матки, по морфологическим и функциональным свойствам подобной эндометрию [38, 39, 40, 109].

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) занимает ведущее место в структуре гинекологической патологии. По данным Всемирного исследовательского фонда эндометриоза (WERF), у каждой десятой женщины репродуктивного возраста в мире встречается эндометриоз (около 176 млн. женщин в возрасте от 17 до 49 лет) [13, 41, 42, 43, 108].

Больные эндометриозом составляют 10-50% от общего числа пациенток с гинекологической патологией [8, 44, 45]. Заболевание исключительно распространено среди женщин репродуктивного возраста с функционирующими яичниками, но может сохраняться и у женщин после овариэктомии или в менопаузальном возрасте [40, 46, 47]. От начала манифестации первых клинических признаков заболевания до постановки диагноза в среднем проходит 7-8 и более лет, в связи с чем, эндометриоз характеризуется как «упущенное» гинекологическое заболевание [1, 48, 49]. В последнее время отмечается неуклонный рост частоты данной патологии. Было показано, что заболевание поражает 5–10% женщин репродуктивного возраста, а среди женщин с тазовой болью и бесплодием его частота составляет 35–50% [41, 50, 51, 52, 53].

Термин «глубокий инфильтративный эндометриоз» предложен Koninckx P.R. в 1995г. и представляется как наиболее тяжелая форма заболевания, для которого характерно мультифокальное поражение органов брюшной полости и репродуктивной системы [54, 55, 56, 57].

Глубокий инфильтративный эндометриоз является клинкоморфологическим понятием и определяется как наличие эктопических очагов прорастающих в глубину 5 мм и более от поверхности брюшины с формированием фиброза, мышечной гиперплазии и инфильтрацией ретроцервикальной клетчатки, клетчаточных пространств таза, маточно-крестцовых связок, стенки влагалища, толстой кишки и мочевого пузыря [58, 59]. Проблема эндометриоза актуальна не только для гинекологов, но также для общих хирургов, проктологов, урологов и врачей других специальностей, поскольку в 10-15% случаях ГИЭ может поражать нерепродуктивные органы малого таза [60, 61].

Эндометриоз — заболевание, которое вызывает множество затруднений касательно этиологии, патогенеза, диагностики и лечения. Отсутствие единой теории происхождения оставляет заболевание дискуссионным по настоящее время [62, 63, 64, 65]. Еще в 19 веке Cullen T. описал 10 различных участков в малом тазу с наличием «слизистой оболочки матки», случай локализации эндометриоза в ректовагинальной перегородке, описал «ректовагинальной аденомиомой» [66]. Ученые Meyer R. [67] в 1923г и Gruenwald P. [68] в 1942г предположили, что этиологическим фактором эндометриоза может выступать метаплазия тканей, под воздействием гормональных изменений, воспаления, механических повреждений [69, 70]. Позже Sampson J. [71] в 1925 г. предложил этиологию ретроградного заброса эндометрия через маточные трубы [74]. В дальнейшем разработана дизонтогенетическая теория в 1973г исследователем Roher H., основанная на нарушении эмбриогенеза и образовании эндометриоидных клеток из аномальных зачатков Мюллера протока [75, 72]. Также предложены различные теории развития эндометриоза: иммунологическая [73], гормональная [74], генетическая [75], влияние образа жизни и экологических факторов [76], следствие хирургических вмешательств [75], каждая из которых отчасти объясняет этиологические аспекты данного патологического процесса, в совокупности представляют его патогенетическое

развитие, однако единой концепции развития эндометриоза в настоящее время, не существует.

1.2 Классификация наружного генитального эндометриоза

На сегодняшний день не существует универсальной классификации, которая бы исчерпывающе характеризовала инфильтративный эндометриоз, сопутствующее бесплодие, наличие и выраженность синдрома тазовых болей, рецидивирующий характер процесса и эффективность предшествующей терапии [77].

В 1991 году Koninckx и др. предложили классификацию глубокого инфильтративного эндометриоза (ГИЭ), основу которой составляют патофизиологические механизмы формирования глубоких очагов и инфильтратов [78]. Согласно данной классификации выделяют три типа глубокого эндометриоза [84], которые могут быть следствием инфильтрации — тип I, втяжения — тип II или развития инфильтрата под брюшиной — тип III.

– *I тип* ГИЭ определяется как очаг конической формы с расположением широкой части в перитонеальной полости. Только по мере иссечения становится возможным выявить, что эндометриоз инфильтрирует ткань на глубину более 5 мм. Анатомические соотношения в малом тазу при этом сохранены.

– *II тип* поражения, относят к глубокому эндометриозу, когда наблюдается значительное нарушение анатомических соотношений в малом тазу за счет покрывающих очаг спаек. При этом наиболее частой особенностью является то, что прямая кишка подпаивается к крестцово-маточным связкам и закрывает Дугласово пространство, почти полностью прикрывая очаг эндометриоза.

– *III тип* поражения, представляет собой сферический узел эндометриоза в ректовагинальной перегородке. Этот тип глубокого эндометриоза характеризуется тем, что большая часть пораженного участка

располагается под брюшиной малого таза с неизменными анатомическими соотношениями, поэтому очаги эндометриоза III типа часто остаются незамеченными во время лапароскопического обследования [84].

Наиболее полной отечественной классификацией ретроцервикального эндометриоза следует считать классификацию Л.В. Адамян (1993, 1998гг), основу которой составили эндометриоидные поражения и патологические изменения органов малого таза [84].

Классификация ретроцервикального эндометриоза (под редакцией Л.В. Адамян, В.И. Кулакова):

- стадия I — эндометриоидные очаги располагаются в пределах ректовагинальной клетчатки;
- стадия II — прорастание эндометриоидной ткани в шейку матки и стенку влагалища с образованием мелких кист и в серозный покров ректосигмоидного отдела и прямой кишки;
- стадия III — распространение патологического процесса на крестцово-маточные связки, серозный и мышечный слои прямой кишки;
- стадия IV — вовлечение в патологический процесс слизистой оболочки прямой кишки с распространением процесса на брюшину прямокишечно-маточного пространства и спаечным процессом в области придатков матки.

В 1993 году А.И. Ищенко предложил свою классификацию распространенных форм эндометриоза по стадиям [78, 83].

- Стадия I — перитонеальная имплантация с мелкими дефектами брюшины и эндометриоидными очагами.
- Стадия II — эндометриоз придатков матки с эндометриоидными очагами или кистами яичников, с развитием множественных спаек вокруг маточных труб и яичников, формированием эндометриоидных инфильтратов на брюшине малого таза.

- Стадия III — распространение эндометриоидного процесса на клетчаточные пространства, начинающиеся позади шейной клетчатки и соседние органы:

- IIIа — поражение серозного покрова соседнего органа или вовлечение в эндометриоидный инфильтрат экстраперитонеально расположенного органа (дистальный отдел толстой кишки, тонкая кишка, червеобразный отросток, мочевой пузырь, мочеточники);

- IIIб — поражение мышечного слоя соседнего органа с деформацией его стенки, но без обтурации просвета;

- IIIв — поражение всей толщи стенки соседнего органа с обтурацией просвета, поражение паравагинальной и параректальной клетчатки, параметрия с формированием стриктуры мочеточника.

- Стадия IV — диссеминация очагов эндометриоза по брюшине малого таза, серозному покрову малого таза и брюшинной полости, асцит либо множественное поражение соседних органов и клетчаточных пространств малого таза.

В 2003 году С. Charpon предложил свою более подробную классификацию глубокого инфильтративного эндометриоза, которая получила весьма широкое распространение [79].

Согласно классификации С. Charpon выделяют следующие формы ГИЭ:

- А. Передний глубокий эндометриоз
- А1. Поражение мочевого пузыря
- Р. Задний глубокий эндометриоз
- Р1. Поражение крестцово-маточных связок
- Р2. Поражение влагалища
- Р3. Поражение кишечника
- Р3а. Очаговое поражение кишечника.
- Без инфильтративного процесса по влагалищу (V–)
- С инфильтративным процессом по влагалищу (V+)
- Р3б. Множественные поражения

Следующей классификацией глубокого инфильтративного эндометриоза является ENZIAN, предложенная F. Tuttlies et al. в 2005 году [80, 84]. В основе данной классификации представлено расположение инфильтрата, глубина его инвазии в полости малого таза, а также инфильтрация в смежные органы брюшной полости и нарушение их функций.

Обозначение выполнено при помощи латинского алфавита и арабских цифр, где:

Е — эндометриоидный очаг

- Е 1а — единичный очаг в Дугласовом пространстве
- Е 1в — очаг в области одной крестцово-маточной связки размером

до 1 см в диаметре

- Е 1вв — двустороннее поражение крестцово-маточных связок.

Гетеротопия до 1 см в диаметре

- Е 1с — единичный очаг в области ректовагинальной перегородки
- Е 2а — поражение верхней трети влагалища

- Е 2в — очаг в области одной крестцово-маточной связки размером

более 1 см в диаметре

- Е 2вв — двустороннее поражение крестцово-маточных связок.

Гетеротопия более 1 см в диаметре

- Е 2с — очаг на прямой кишке до 1 см в диаметре

- Е 3а — инфильтрат расположен в средней трети влагалища

- Е 3в — инфильтрация кардинальной связки с одной стороны без

развития гидронефроза

- Е 3вв — инфильтрация обеих кардинальных связок без

гидронефроза

- Е 3с — инфильтрация прямой кишки на протяжении 1–3 см, без

стеноза

- Е 4а — инфильтрация задней поверхности матки и/или нижней

трети влагалища

- E 4в — инфильтрация кардинальной связки с одной стороны с развитием гидронефроза
- E 4вв — билатеральное поражение кардинальных связок с развитием гидронефроза
- E 4с — инфильтрат прямой кишки размером более 3 см и/или с развитием стеноза
- F — поражение прочих смежных органов
- FA — аденомиоз
- FB — глубокое поражение мочевого пузыря
- FU — инфильтрация мочеточника
- FI — поражение толстой кишки (верхнеампулярный отдел прямой кишки и вовлечение в процесс сигмовидной кишки)
- FO — другая локализация

Показатель ENZIAN (ENZIAN score) позволяет не только описать локализацию, но и оценить тяжесть глубокого инвазивного эндометриоза в баллах. Основное преимущество данной классификации — топографическое отображение эндометриоза, позволяющее более точно определить объем предполагаемого оперативного вмешательства. Следует отметить, что классификация F. Tuttlies et al. в настоящее время остается наиболее полной для инфильтративных форм эндометриоза [82].

Однако, на сегодняшний день, не существует оптимальной классификации, которая бы отражала все характеристики инфильтративного эндометриоза и могла бы служить основой в клинической практике [1].

1.3 Клиническая характеристика и диагностика ретроцервикального эндометриоза

Клиническая картина при ретроцервикальном эндометриозе характеризуется поражением клетчатки, расположенной позади шейки матки, прорастанием эндометриоидной ткани в заднюю часть свода влагалища, прямую кишку, прямокишечно-влагалищную перегородку. Эндометриоидные

очаги в зависимости от локализации, формы, глубины поражения, гормональной активности и распространенности, имеют различные клинические проявления.

Эндометриоз негативно влияет на качество жизни женщин репродуктивного возраста за счет болевого синдрома и бесплодия, встречающегося в 50% случаях поздней верификации [54, 81] поскольку на начальных стадиях это заболевание практически не имеет явных клинических проявлений [82]. Глубокий инфильтративный эндометриоз связан с выраженной тазовой болью и бесплодием более чем у 95% пациенток [81] и сопровождается такими симптомами, как дисменоррея [1], диспареуния, а в случае инвазии эндометриоидных очагов в крестцово-маточные связки и/или в стенку прямой кишки – дисхезией, что оказывает выраженное негативное влияние на социальную жизнь, сексуальное и психологическое благополучие, значительно ухудшая качество жизни [83]. По данным зарубежных исследований, в 10-22% в общей популяции наблюдается бессимптомное течение заболевания [41, 42, 84].

Симптомами поражения ретроцервикальной клетчатки являются резкие боли в нижних отделах живота, иррадиирующие во влагалище, прямую кишку, промежность, наружные половые органы, бедро и усиливающиеся при дефекации, диспареуния, а также анте- и постпонирующие выделения из половых путей [59]. Диспареуния является одним из распространенных симптомов РЦЭ и встречается у 2/3 пациенток [85]. Важно отметить, что хроническая тазовая боль может провоцировать у пациенток с РЦЭ сексуальную дисфункцию, тревожное и/или депрессивное состояние, что в свою очередь может приводить их к инвалидизации [86].

Бесплодие является одним из наиболее частых клинических симптомов РЦЭ, в виду формирования спаечного процесса на органах малого таза, в том числе в области придатков, с формированием перифокального воспаления, спаечной деформации фимбриального конца маточных труб, повреждением ткани яичников и снижением овариального резерва [87, 88].

При распространении ретроцервикального эндометриоза на нерепродуктивные органы, клиническими симптомами могут быть дизурия, послабление стула во время менструации, циклические кишечные колики и/или ректальные кровотечения. Это ухудшает общее состояние и социальное благополучие пациентки [89, 90, 91].

Несмотря на многообразие симптомов ретроцервикального эндометриоза, не всегда наблюдается корреляция между распространенностью, глубиной поражения, клинической картиной и длительностью заболевания.

Несмотря на существующие в настоящее время инструментальные методы диагностики (ТВУЗИ, МРТ), квалифицированное бимануальное исследование остается ценным, первоочередным методом диагностики ретроцервикального эндометриоза.

Наличие болезненных уплотнений позади шейки матки при ректовагинальном осмотре позволяет с большей вероятностью диагностировать ретроцервикальный эндометриоз [54]. При бимануальном исследовании в ретроцервикальной области пальпируются мелкобугристые, плотные, неподвижные, резко болезненные образования. При прорастании слизистой оболочки заднего свода влагалища при исследовании в зеркалах определяются синюшные «глазки», выделяющие темную кровь во время менструации [1].

Кольпоскопия является дополнительным методом визуализации эндометриодных гетеротопий во влагалище и на шейке матки. При гистероскопии можно определить косвенные признаки эндометриоза (эндометриодные крипты, скалистый рисунок полости матки и т.д.).

ТВУЗИ является первой линией диагностики, поскольку является относительно недорогим и доступным методом исследования, имеет высокую специфичность и чувствительность (от 44 до 99%) [92].

При ТВУЗИ ретроцервикального эндометриоза характерно гипэхогенное, плотное образование в ректовагинальной клетчатке с неоднородной внутренней структурой и (бугристыми) контурами. Наряду с гипэхогенными участками неправильной формой, определяются зоны

повышенной эхогенности [93, 94]. При инфильтрации эндометриоза в прямую кишку определяется эхонегативная зона, овальной или полулунной формы. При надавливании влагалищным датчиком в зоне инфильтрации ретроцервикального эндометриоза, может отмечаться болезненность [104]. Недостатком УЗИ является малоинформативность при умеренно выраженном наружном генитальном эндометриозе.

По данным Европейского общества урогенитальной радиологии (ESUR), при диагностике ГИЭ, предпочтение отдается МРТ при неэффективности ТВУЗИ [100]. МРТ при ретроцервикальном эндометриозе обеспечивает высокую разрешающую способность, что позволяет определить точную локализацию и структуру патологического образования, также взаимосвязь с подлежащими органами малого таза. Главным преимуществом МРТ перед УЗИ является четкая дифференциация тканей и сред, отсутствие ограничения области исследования и меньшая зависимость от субъективных факторов.

При подозрении на вовлечение в инфильтративный процесс стенки кишки целесообразно выполнять колоноскопию [95].

Лапароскопия остается одним из высокоинформативных методов диагностики эндометриоза. Визуализация поражений при хирургическом вмешательстве с последующим гистологическим подтверждением является в настоящее время наиболее точным методом окончательного установления диагноза [96]. Следует учитывать, что лапароскопия является инвазивным диагностическим и одновременно лечебным методом, но требует анестезиологического обеспечения, развитых хирургических навыков и связана с риском возможных интраоперационных или послеоперационных осложнений [97]. В связи с этим, лапароскопия не может служить скрининговым методом диагностики эндометриоза [61].

Таким образом, глубокий инфильтративный эндометриоз представляет собой значимую гинекологическую патологию, приводящая к нарушениям репродуктивной системы и органов брюшной полости. Несмотря на многочисленные исследования, направленные на разработку методов

диагностики, проблемы бесплодия и тазовых болей у женщин с эндометриозом остаются нерешенными. Есть необходимость в разработке более надежных, малоинвазивных и эффективных методов диагностики.

1.4 Возможности ранней диагностики ретроцервикального эндометриоза на основе изучения микроРНК

Особый интерес исследователей всего мира объединяют нерешенные вопросы прогнозирования и ранней диагностики эндометриоза. Проводится поиск различных неинвазивных методов и предикторов развития эндометриоза, особое внимание уделяется молекулярным механизмам апоптоза, инвазии и жизнеспособности клеток. Кроме того, исследуются вопросы, связанные с генетической предрасположенностью, иммунологическим и воспалительным ответом организма при эндометриозе.

На сегодняшний день не существует ни одного метода диагностики с высокой чувствительностью и специфичностью, обеспечивающего раннее выявление риска развития эндометриоза.

В последнее время особое внимание уделяется поиску неинвазивных, легко воспроизводимых и специфических маркеров эндометриоза, которые могут использоваться не только для скрининга, но и для разработки терапии заболевания. Необходимыми условиями скринингового маркера являются: участие в патогенезе эндометриоза, определение его в биологических жидкостях на ранних стадиях заболевания до появления клинической картины, а также высокая чувствительность и специфичность. В связи с этим, учеными всего мира детально рассматриваются различные молекулы, играющие важную роль в большинстве предполагаемых патогенетических механизмов эндометриоза.

Различные исследования посвящены изучению патофизиологии и регуляторных механизмов клеток, и выделению наиболее перспективных маркеров в целях своевременной профилактики заболевания.

Одним из ярких открытий 21 века, стало изучение свойств и биологического эффекта нового класса соединений – микроРНК, играющих важную роль в регуляции активности генов и их продуктов на посттранскрипционном уровне [98, 109].

МикроРНК - эндогенные, некодирующиеся, рибонуклеиновые кислоты с 22 нуклеотидами в длину, которые регулируют экспрессию гена. Первые микроРНК были описаны в начале 1990 года, однако как отдельный класс биологических соединений начали изучать только в начале 2000-х годов. В настоящее время, анализ базы данных miRBase показал, что у человека насчитывается около 2216 зрелых молекул микроРНК, контролирующей функциональную активность генома у человека [99]. Однако эти данные значительно меняются в связи с совершенствованием методов выявления и открытием новых функций представленных молекул. Принято считать, что мишенями микроРНК являются до 60% генома человека [100, 101]. МикроРНК активно изучаются при онкологических и сердечно-сосудистых заболеваниях, также при заболеваниях нервной системы и в гастроэнтерологии [102, 103, 104].

Нарушения в динамическом балансе между микроРНК и мишенью могут приводить к изменениям в физиологических тканях и инициировать патологические процессы, как указываются в базах данных микроРНК (miRmine - Human miRNA Expression Database [105], miRGator [106], Атлас ткани miRNA человека) [107]. Кроме того, на тканеспецифичные уровни экспрессии мРНК также влияют нормальные физиологические процессы, такие как эндокринные изменения в период менструального цикла на эндометрий [108]. Наиболее распространенным механизмом взаимодействия является микроРНК с 3'-нетранслируемой областью мишени - микроРНК, что приводит к последовательному торможению, деградации микроРНК и/или дестабилизации [109].

Различными группами исследователей сообщалось о нескольких типах микроРНК, обнаруживаемых в эндометрии и очагах наружного генитального эндометриоза [110, 111]. Однако, не было достигнуто единого консенсуса

относительно того, какие именно микроРНК наиболее важны и стабильны при данном заболевании, поскольку дисрегулированные микроРНК, о которых сообщают одни исследователи, не всегда подтверждают другие авторы [120-126].

Результаты исследований, в которых рассматриваются полный спектр микроРНК, экспрессируемых в очагах наружного генитального эндометриоза, [112-115, 125] указывают на то, что количество дисрегулированных микроРНК, предположительно связанных с патогенезом эндометриоза, относительно изменчивы (от 5 до 156 микроРНК по данным одного исследования).

Наиболее часто сообщаемый тип дифференциально экспрессирующимся микроРНК является микроРНК -200b, который относится к семейству генов микроРНК -200, может быть связан с патогенезом наружного генитального эндометриоза из-за участия в миграции и эпителиально-мезенхимальной трансформации клеток. В обзоре литературы по эпителиально-мезенхимальной трансформации клеток [116] показано, что микроРНК -200 имеет сложную сеть регуляторов транскрипции: таких, как ZEB1 и ZEB2 (E-box-связывающие факторы транскрипции 1 и 2 соответственно), которые являются транскрипционными репрессорами для E-cadherin [109]. Суперэкспрессия микроРНК -200 приводит к уменьшению экспрессии ZEB1 / ZEB2 и увеличению экспрессии E-cadherina, который необходим для поддержания эпителиальной природы клеток [117]. Пластичность эпителиальных клеток контролируется аутокринной сигнальной сетью TGF- β / ZEB / микроРНК -200 [135] и по пути Wnt / β -catenin [133]. В период эпителиально-мезенхимальной трансформации клеток, что предположительно происходит в патогенезе наружного генитального эндометриоза, в эпителиальных клетках приобретенная мезенхимальная специфичность приводит к усилению клеточной инвазии и миграции [134].

Kent и др. [118, 119] провели исследование, касающееся циркулирующих в крови микроРНК в качестве биомаркеров наружного генитального эндометриоза. Исходя из полученных данных исследователей, авторы выбрали

три типа микроРНК из семейства генов микроРНК-200 (микроРНК-200a-3p, микроРНК-200b-3p и микроРНК-141-3p), экспрессия генов оценивалась в образцах плазмы крови от 61 больных эндометриозом и 65 женщин группы контроля. Все три вида микроРНК были исследованы и выделены у больных наружным генитальным эндометриозом, следовательно, авторами было отмечено, что микроРНК-200a-3p и микроРНК-141-3p имеют наиболее высокие значения для использования в качестве неинвазивных биомаркеров наружного генитального эндометриоза.

Однако другие группы исследователей получили противоречивые результаты, т.е. значительное подавление микроРНК -200b в эндометриоидных очагах кистозной формы (~ 2 раза) и перитонеальных поражениях (в 2,8 раза) по сравнению с тканью эндометрия [125 – 129]. Было отмечено, что в здоровой ткани эндометрия микроРНК -200a, микроРНК -200b и микроРНК -141 высоко экспрессируются в эпителиальных клетках, что указывает на специфичность данного типа микроРНК [112]. Следовательно, возможно, что представленная, по-видимому, более низкая экспрессия генов семейства микроРНК -200 в эндометриоидных поражениях в большей мере отражает незначительную долю эпителиальных клеток в очагах поражений и не связана с патогенезом болезни [109]. Таким образом, истинная значимость микроРНК -200 в патогенезе наружного генитального эндометриоза должна быть подтверждена в будущем путем сравнения чистых популяций эутопических и эктопических эпителиальных клеток.

Второй тип микроРНК, обычно встречающийся в эндометриоидных поражениях, представляет собой микроРНК -145 (микроРНК-145-5p [125, 128], и микроРНК-145-3p) [129]. Данный тип микроРНК способствует апоптозу и развитию раковых клеток, ингибирует инвазию и метастазирование злокачественных клеток [133]. Однако недавно было поставлено под сомнение важность микроРНК-145 в патогенезе рака толстой кишки [133]. Было установлено, что микроРНК -145 экспрессируется в мезенхимальных клетках, таких как фибробласты и гладкомышечные клетки, а не в злокачественных

опухолях толстой кишки и не в здоровых эпителиальных клетках. Следовательно, незначительная экспрессия микроРНК-145 в раковой ткани по сравнению со здоровой тканью толстой кишки лишь отражает различный клеточный состав тканей, а не дисрегуляцию микроРНК-145 в раковых клетках [138]. Ситуация может быть сходной при наружном генитальном эндометриозе, поскольку биопсийные материалы из эндометриоидных поражений содержат разные типы клеток, включая клетки окружающей ткани (например, перитонеальные и мезенхимальные клетки), которые отсутствуют в эутопическом эндометрии, и поэтому не стоит исключать тот вариант, что более высокий уровень микроРНК -145 в эндометриоидных очагах отражает только клеточную гетерогенность ткани [109]. Тем не менее, исследования *in vitro* с использованием стромальных клеток из очагов эндометриоза и из ткани эндометрия выявили роль микроРНК -145 в регуляции инвазивного роста и фенотипа стволовых клеток [120].

Третьим типом, наиболее часто экспрессирующимся микроРНК в эндометриоидных поражениях является микроРНК-196b, с геномным расположением между генами НОХА9 и НОХА10. Следует отметить, что микроРНК -196, микроРНК -196a и микроРНК -196b регулируют многие гены из группы НОХ-кластеров, например, НОХА5, НОХВ7, НОХВ8, НОХС8 и НОХА10. По данным исследователей, последние регулируют функции эндометрия и предполагается, что экспрессия НОХА10 зависит от фазы менструального цикла с выражением максимального пика во время окна имплантации. Принимая во внимание роль микроРНК-196b в тканевой васкуляризации и регенерации раневой поверхности в ответ на травмы или другие патологические состояния [121], а также ее возможную роль в нормальной физиологии эндометрия, данный тип микроРНК может быть связан с патогенезом эндометриоза или ассоциирован с бесплодием, аффилированным с эндометриозом. Необходимы дальнейшие исследования для установления влияния таких факторов, как степень васкуляризации эндометриоидных

поражений и ткани эндометрия, фаза менструального цикла на уровень микроРНК-196b.

Исследования микроРНК в эндометриоидных очагах показали перспективные типы микроРНК для дальнейшего исследования, которые могут быть вовлечены в патогенез эндометриоза, остается вопрос о влиянии клеточной гетерогенности на эти результаты. Однако, более высокая клеточная гетерогенность в очагах поражений по сравнению с тканью эндометрия может существенно влиять на качество определения дифференциально экспрессирующихся микроРНК [109].

Эндометрий представлен различными типами клеток (стромальные, эпителиальные, эндотелиальные, иммунные клетки и др.), доля данных типов клеток варьируется в разных биоптатах в зависимости от фазы менструального цикла и индивидуальной изменчивости. Действительно, в некоторых исследованиях молекулярного профилирования эутопического эндометрия были предложены изменения генной экспрессии, которые усиливают пролиферацию, имплантацию и выживаемость ткани эндометрия в перитонеальной ткани [109]. Некоторые исследователи рассматривают теорию о том, что первичные клетки наружного генитального эндометриоза закладываются из измененного эутопического эндометрия. Был проведен ряд исследований, основанных на гипотезе об экспрессии таких типов микроРНК как микроРНК-199a [122], микроРНК-126 [123], микроРНК-23a, микроРНК-23b [124], микроРНК-29c и микроРНК-451 [125], наибольшая экспрессия наблюдалась у микроРНК-202 [126] и отсутствие значимых изменений в микроРНК-143 и микроРНК-145 [127] в эндометрии у пациенток с эндометриозом по сравнению контрольной группой. Кроме того, достоверно более высокие уровни микроРНК-135a и микроРНК-135b были зарегистрированы в эутопическом эндометрии у пациентов с эндометриозом. Однако микроРНК-135a дифференцированно экспрессируется только в пролиферативной фазе менструального цикла в образцах, полученных

от пациенток с эндометриозом по сравнению с группой контроля, что указывает на влияние фазы менструального цикла на экспрессию микроРНК [128].

Было установлено, что во время менструального цикла эндометрий подвергается циклическому росту и дегенерации, а уровни некоторых микроРНК изменяются вместе с нормальной физиологией эндометрия [109]. Например, экспрессия микроРНК-29b, микроРНК-29c, микроРНК-30b, микроРНК-30d, микроРНК-31, микроРНК-193a-3p, микроРНК-203, микроРНК-204, микроРНК-200c, микроРНК-210, микроРНК-582-5p и микроРНК-345 была выше в секреторной фазе менструального цикла, чем в пролиферативной, также было отмечено, что уровень микроРНК-181, микроРНК-183 и микроРНК-200РНК несколько снижен во время процесса децидуализации [129]. Кроме того, некоторые микроРНК такие как (микроРНК-30b, микроРНК-30d и микроРНК-494) могут участвовать в регуляции восприимчивости эндометрия [130]. Следовательно, некоторая изменчивость уровней микроРНК в эндометрии у пациентов с эндометриозом, может быть обусловлена особенностью менструального цикла.

Burney и др. [131] опубликовали одно из первых исследований с определением профиля экспрессии микроРНК в эндометрии у женщин с наружным генитальным эндометриозом и без этого заболевания. В этом исследовании, микроРНК были выделены методом ПЦР и установлены четыре дифференциально экспрессированных типов (микроРНК-34c-5p, микроРНК-9, микроРНК-9, микроРНК-34b) в эутопическом эндометрии у женщин с эндометриозом по сравнению с контрольными материалами исследований. Согласно регуляторным механизмам микроРНК, подавление уровня определенных микроРНК влечет за собой обратную активацию его микроРНК - мишени.

Laudanski и др. провели исследование, включавшее 25 здоровых женщин и 21 больных эндометриозом яичников, у которых экспрессия 667 микроРНК была исследована методом ПЦР. Результаты исследований подтвердили, что микроРНК-483-5p, регулятор IGF2 и микроРНК-629-3p, участвуют в

воспалительных реакциях и дифференцированно экспрессируются в эутопическом эндометрии больных эндометриозом по сравнению с контрольной группой. Авторами было указано, что нарушение регуляции генов выделенных микроРНК могут способствовать разрастанию ткани эндометрия вне полости матки [132].

Недавнее исследование показало, что микроРНК-156 дифференцированно выражено в эндометриоидной ткани по сравнению с нормальным эндометрием, при этом следует учитывать, что двенадцать подтипов выделенного микроРНК участвуют в фибринолизе и ангиогенезе. Эти исследования подчеркивают молекулярные механизмы, которые могут быть связаны с развитием эндометриоза, а также изменения в экспрессии генов микроРНК в эктопическом эндометрии [133].

Wang и др. [134] впервые изучили циркулирующие микроРНК в двух образцах сывороток от больных генитальным эндометриозом и здоровых женщин. После исследования материала с помощью полимеразной цепной реакции авторы выяснили, что микроРНК-199А и микроРНК-122 обнаруживаются преимущественно в материалах с эндометриозом и регулируют активность микроРНК-145*, микроРНК-141*, микроРНК-542-3р и микроРНК-9*, следовательно, могут использоваться в качестве биомаркеров наружного генитального эндометриоза.

Снижение концентрации в плазме микроРНК-17-5р, микроРНК-20а и микроРНК-22 [135] и повышенные уровни в плазме микроРНК-16, микроРНК-191 и микроРНК-195 [146] были обнаружены у женщин с генитальным эндометриозом по сравнению с женщинами без эндометриоза. Исследователи по оценке уровней микроРНК в сыворотке крови обнаружили, повышение микроРНК -199А и микроРНК-122 и уменьшение уровней микроРНК-145*, микроРНК-141*, микроРНК-542-3р и микроРНК-9* у больных эндометриозом по сравнению с контрольной группой [149].

По наблюдениям исследователей Fassbender А. и соавт. [137] 23 женщины с гистологически подтвержденным эндометриозом и 23 условно здоровые

женщины были включены в исследование профилирования микроРНК. Три из шести типов микроРНК дифференцированно выделены с помощью полимеразной цепной реакции (микроРНК -17-5p, микроРНК -20a и микроРНК-22) и были в значительно больших значениях в материалах исследований у больных эндометриозом по сравнению с контрольной группой.

В 2015 году два исследования были опубликованы в мировой литературе, расширяя круг доказательств микроРНК в качестве неинвазивных биомаркеров эндометриоза в биологических жидкостях. В первом случае, дифференцировано выделенные микроРНК, точнее микроРНК-135a и let-7a-F, были определены в сыворотке у 24 больных генитальным эндометриозом и 24 женщин группы контроля. Вторая группа исследователей обнаружили, что комбинация уровней LET-7b, let-7d и let-7F в пролиферативной фазе менструального цикла имели наибольшую площадь под кривой значения у больных эндометриозом, в отличии от контрольной группы женщин [136]. Следует отметить, что были выделены несколько микроРНК с разными значениями в зависимости от фазы менструального цикла у пациенток с эндометриозом, в отличии от результатов предыдущих исследователей [137].

Таким образом, данные касательно экспрессии микроРНК и их генов при эндометриозе недостаточны, требуются дальнейшие исследования в этой области для понимания их роли в развитии и распространении эндометриоза.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

В соответствии с целью исследования и поставленными для её решения задачами, в хирургическом отделении (заведующий – к.м.н. В.Д. Чупрынин) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России в период с 2016 по 2018 гг. были обследованы и пролечены 180 пациенток репродуктивного возраста, обратившихся для планового оперативного лечения: 120 пациенток основной группы с ретроцервикальным эндометриозом и 60 пациенток группы сравнения без эндометриоза по данным лапароскопической операции.

В зависимости от степени распространения ретроцервикального эндометриоза и сочетания патологии органов малого таза, пациентки основной группы (I) были разделены на 4 подгруппы:

- IA подгруппа – больные ретроцервикальным эндометриозом (n = 30)
- IB подгруппа - больные ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с вовлечением толстой кишки (n = 30).
- IB подгруппа - больные ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с эндометриоидной кистой яичника (n = 30).
- II подгруппа – больные ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с миомой матки (n = 30).

Две группы сравнения:

- II группа – пациентки с трубно - перитонеальным бесплодием (n = 30)
- III группа - пациентки с миомой матки и полипом эндометрия (n = 30).

Дизайн исследования

Для задачи № 1. Провести анализ клинико - анамнестических и клинико-морфологических данных у больных ретроцервикальным эндометриозом.

Для задачи №2. Оценить диагностическую информативность инструментальных методов исследования у больных ретроцервикальным эндометриозом.

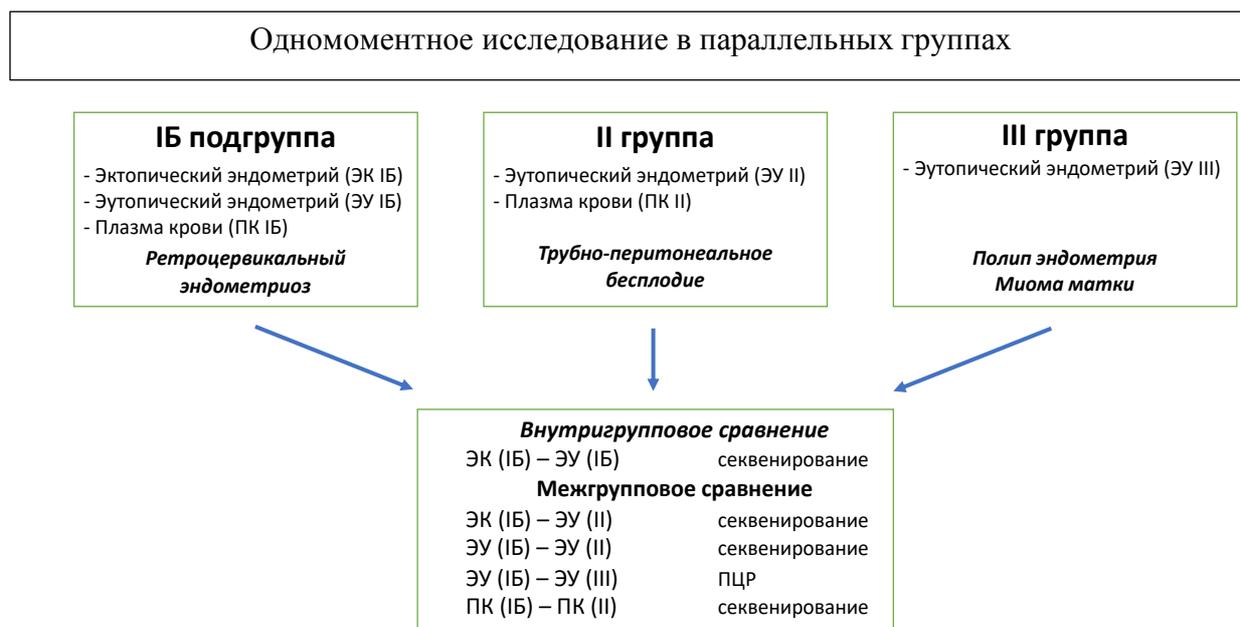


Сравнение клинико – анамнестических и патоморфологических методов исследований проводилось между группами I и II.

Сравнение инструментальных методов исследований между подгруппами I группы.

Для задачи № 3. Провести сравнительный анализ экспрессии генов и микроРНК в эутопическом, эктопическом эндометрии и плазме крови у больных ретроцервикальным эндометриозом.

Для задачи №4. Провести биоинформационный анализ путей внутриклеточной сигнализации, регулируемых дифференциально экспрессированными генами и генами-мишенями дифференциально экспрессированных микроРНК.



Критерии включения и исключения

Включение пациенток в клиническое исследование проводилось после получения информированного согласия и протоколировалось по стандартам Этического комитета Министерства здравоохранения Российской Федерации. Исследование одобрено экспертной комиссией ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по вопросам медицинской этики.

Критерии включения: пациентки в возрасте от 18 - 45 лет, информированное согласие на участие в исследовании, наличие ретроцервикального эндометриоза (для основной группы), наличие бесплодия трубно – перитонеального генеза, миомы матки и полипа эндометрия (для групп сравнения).

Критерии исключения: инфекционные заболевания, злокачественные новообразования, острые воспалительные заболевания органов малого таза, тяжелая экстрагенитальная патология, предшествующая гормональная терапия в течение 6 месяцев по поводу эндометриоза.

2.2 Клинико-инструментальное обследование больных ретроцервикальным эндометриозом

Для решения цели и поставленных задач настоящей работы, были использованы различные методологические подходы, которые требовали комплексного обследования и тщательного наблюдения за пациентками в несколько этапов.

Детально изучены жалобы и анамнез пациенток, проанализированы особенности менструальной функции – менархе, характер, длительность и регулярность менструального цикла; репродуктивной функции – число беременностей, их течение, исходы; начало половой жизни; наличие перенесенной гинекологической и экстрагенитальной патологии. Особое внимание уделялось перенесенным ранее оперативным вмешательствам с вхождением в брюшную полость, доступам и объемам. При изучении основной патологии особое внимание уделялось жалобам пациентки, анамнезу, особенностям течения заболевания, предшествующему лечению и эффективности проведенной терапии.

Степень распространения ретроцервикального эндометриоза устанавливалась по данным гинекологического осмотра (бимануального и ректо-вагинального исследования), ТВУЗИ, МРТ, лапароскопии и гистологического исследования биоптата.

Оценку гинекологического статуса проводили на основании осмотра наружных половых органов, исследования влагалища и шейки матки в гинекологических зеркалах, влагалищного, бимануального и ректовагинального исследований.

Клинико-лабораторные методы обследования включали: общий анализ крови, общий анализ мочи, определение группы крови и резус-фактора, определение биохимических и свертывающих параметров крови, тесты для исключения вируса иммунодефицита человека, сифилиса, вируса гепатита В и С. Всем больным проводили микроскопическое исследование отделяемого из цервикального канала и влагалища.

Предоперационное обследование включало рентгенологическое обследование органов грудной клетки, электрокардиограмму, консультацию

терапевта и анестезиолога, по показаниям консультация смежными специалистами.

Дополнительные (инструментальные) методы исследования включали: трансвагинальное ультразвуковое исследование органов малого таза (ТВУЗИ), магнитно-резонансную томографию (МРТ). При распространенных формах ретроцервикального эндометриоза и наличии специфических жалоб, с целью исключения или подтверждения прорастания эндометриоидного инфильтрата в стенку кишки, выполнялась колоноскопия по стандартной методике.

Ультразвуковое исследование органов малого таза проводили в отделении функциональной диагностики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ (руководитель - д.м.н., профессор Гус А.И.) на аппарате Aloka ProSound Alpha 10 (Япония), Toshiba Xario (Япония), с использованием трансабдоминального и трансвагинального датчиков 3,5 и 5,0 МГц.

Магнитно-резонансную томографию проводили в отделении радиорентгенологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий - к.м.н. Быченко В.Г.) по стандартной методике, с помощью МР-томографа «Magnetom Harmony» (Siemens Medical Systems, Германия) с напряженностью магнитного 1 Тесла, резонансной частотой для протонов 42 МГц

После получения полной информации о планируемом хирургическом лечении, возможных интра- и послеоперационных осложнениях, все больные давали письменное информированное согласие на проведение им оперативного вмешательства.

Хирургическое лечение проводили в условиях эндотрахеального наркоза по стандартной методике в положении Тренделенбурга.

Гистероскопию выполняли во всех случаях с лечебно-диагностической целью с использованием жесткого гистероскопа с наружным диаметром 5 мм фирмы «Karl Storz» (Германия), типа Hamou I (30°) и Hopkins II (30°). В качестве среды для расширения полости матки использовали изотонический раствор

натрия хлорида (500-800 мл), который подавался с помощью помпы Nаmоu Endomat «Karl Storz» (Германия). Всем больным выполняли диагностическое выскабливание эндометрия с последующим патоморфологическим и молекулярным исследованием соскоба.

Всем пациенткам выполняли лапароскопическую операцию с диагностической и лечебной целью. После опорожнения мочевого пузыря, производился доступ в брюшную полость через параумбиликальный разрез с последующим наложением карбоксипневмоперитонеума в 11-15 мм рт.ст. Вводили первичный троакар диаметром 10-11 мм «Karl Storz» (Германия) и лапароскоп Hopkins II (0°) «Karl Storz» (Германия). В последующем, после размещения больной в положение Тренделенбурга (20-30°), устанавливали вторичные винтовые троакары «Karl Storz» (Германия). При лапароскопии использовали телевизионные системы «Karl Storz» (Германия), электрохирургические генераторы Autocon 200 и 350, моно- и биполярные инструменты «Karl Storz»; ультразвуковую хирургическую установку Ultracision Harmonic Scalpel System (Ethicon Endosurgery Inc., США).

В ходе операции сначала выполняли обзорную лапароскопию органов брюшной полости, затем оценивали матку (размеры, подвижность, окраску, наличие новообразований), проводили осмотр связочного аппарата матки, брюшины пузырьно - маточного и прямокишечно-маточного углублений. В последующем, оценивали состояние маточных труб и яичников (величина, структура, наличие кистозных включений). Особое внимание уделяли оценке степени распространения ретроцервикального эндометриоза и спаечного процесса, глубине инвазии и размерам эндометриоидных гетеротопий.

Объем оперативного вмешательства у пациенток зависел от исходного диагноза и степени распространения ретроцервикального эндометриоза, так у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом проводили иссечение эндометриоидных очагов в пределах визуально здоровых тканей с последующим патоморфологическим исследованием удаленного материала. Небольшая часть удаленного ретроцервикального очага эндометриоза также

отправлялась для молекулярного анализа (диаметром 0,5 см). После взятия биопсии выполняли коагуляцию перитонеальных очагов без признаков инвазии. Всем больным НГЭ иссекали очаги ретроцервикального эндометриоза, части больным – выполняли резекцию яичников, кишки, по поводу инфильтративного роста, также у некоторых больных миомой матки выполняли энуклеацию миоматозного/ых узла/ов во время оперативного вмешательства, при полипе эндометрия – полипэктомию и отдельное диагностическое выскабливание слизистой полости матки и цервикального канала под контролем гистероскопии.

В послеоперационном периоде проводили динамическое наблюдение, клиническо – лабораторный контроль состояния больной на основании общего анализа крови, гемостазиограммы, биохимических показателей крови и анализов мочи, при необходимости выполняли ультразвуковое исследование. Проводили комплексную антибактериальную, противовоспалительную терапию, обезболивание, профилактику тромбоэмболических осложнений, обработку послеоперационных швов.

Патоморфологическое исследование проводилось в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – проф. А.И. Щеголев). На первом этапе проводили макроскопическую оценку удаленного макропрепарата, затем фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина в течение 24 часов и согласно стандартному протоколу гистологической проводки тканей и заливали в парафин. После окрашивания срезов гематоксилином и эозином, проводили дальнейшее морфологическое исследование по стандартной общепринятой методике.

2.3 Специальные методы исследования

Для молекулярного анализа образцы подбирались с учётом данных морфологического исследования. Молекулярное исследование полученных биологических образцов во время хирургических операций осуществлялось в

лаборатории молекулярной патофизиологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – к.х.н. М.Ю. Бобров).

До операции осуществляли забор 3 мл венозной крови, натошак, одноразовым шприцом вместимостью 3мл. У каждой пациентки, кровь была взята в стерильную пробирку ЭДТА-натрий (0,5 мл 1,5% раствора на 10 мл крови), которую в дальнейшем центрифугировали в течение 10 мин при 2500 оборотах для получения плазмы. Затем забирали плазму специальной одноразовой пипеткой и переливали в пластиковую пробирку, которую помещали в морозильную камеру для хранения при температуре -80°C .

Фрагменты эндометрия после диагностического выскабливания слизистой полости матки помещали в отдельные стерильные пробирки (2 мл) и немедленно погружали в жидкий азот. В последующем, в течение дня, все образцы в жидком азоте транспортировали в лабораторию, где они хранились в морозильной камере при температуре -80°C .

У женщин группы сравнения также проводили забор венозной крови и эндометриального эндометрия согласно вышеописанному протоколу. Каждый образец ткани был разделен на две части: для патоморфологического исследования и для молекулярного анализа. С целью сравнения экспрессии микроРНК дополнительно в исследование были включены образцы тканей, полученные у пациенток репродуктивного возраста с полипом эндометрия и миомой матки.

Фрагменты эктопического очага ретроцервикальной клетчатки, были иссечены острым путем без применения электроэнергии, помещали в отдельные стерильные пробирки (2 мл) и немедленно погружали в жидкий азот. В последующем, образцы в жидком азоте транспортировали в лабораторию в течение дня, где они хранились в морозильной камере при температуре -80°C .

Выделение РНК из тканей эндометрия

Для исследования были использованы образцы тканей эктопического и эндометриального эндометрия, собранные в пролиферативную фазу

менструального цикла. Фаза цикла также подтверждалась результатами гистологического исследования. Полученные при хирургическом вмешательстве образцы тканей промывали в 0,9% NaCl и мгновенно замораживали в жидком азоте для последующего хранения при -80°C . Выделение суммарной РНК из тканей производили с использованием набора miRNeasy Micro Kit (Qiagen) с последующей очисткой и обогащением фракцией микроРНК набором RNeasyMinElute Cleanup Kit (Qiagen) в соответствии с протоколами производителя. Измерение концентрации РНК проводили с использованием флуориметра Qubit 3.0 (InvitrogenTM), качество образца суммарной РНК оценивали методом капиллярного электрофореза с использованием набора RNA 6000 Nano Kit (Agilent Technologies) в биоанализаторе Agilent Bioanalyzer 2100. Для дальнейших исследований использовали образцы суммарной РНК с соотношением молярных концентраций рибосомальных РНК (28S и 18S), равным 1,5-1,8 и RIN индексом не менее 7.

Выделение РНК из плазмы периферической крови

Образцы венозной крови женщин с ретроцервикальным эндометриозом собирали в пробирки VACUETTE® с ЭДТА. Далее проводили центрифугирование в течение 20 минут при 300g (4°C), отбирали плазму, и повторно центрифугировали в течение 10 минут при 14500g. РНК выделяли из 200 мкл плазмы крови с использованием набора Serum Plasma (Qiagen) с добавлением $5,6 \times 10^8$ копий синтетической мкРНК cel-miR-39 (Qiagen) после инкубации плазмы с фенольной смесью Qiazol. cel-miR-39 использовали в качестве внутреннего контроля эффективности выделения РНК, синтеза комплементарной ДНК (кДНК) и количественной ПЦР в реальном времени.

2.3.1 Транскриптомный анализ

Профили экспрессии микроРНК определяли методом секвенирования нового поколения на платформе Illumina. Для создания библиотек кДНК и

последующего секвенирования использовали выделенную тотальную РНК из отобранных на основании клинико-анамнестических данных образцов. Библиотеки кДНК готовили с использованием наборов NEBnext, в соответствии с протоколами производителя. Измерение концентрации библиотек кДНК проводили с использованием флуориметра Qubit 3.0 (Invitrogen™), качественный анализ библиотек проводили методом капиллярного электрофореза в биоанализаторе Agilent Bioanalyzer 2100. Секвенирование проводили на приборе Illumina NextSeq с использованием реагентов и расходных материалов фирмы Illumina (NextSeq 500/550 High Output v2 kit). Качество секвенирования оценивали при помощи сервиса BaseSpace (Illumina) по следующим параметрам: плотность кластеров, интенсивность сигнала в каналах детекции, доля кластеров, прошедших фильтр, по выходу выровненных прочтений (все вышеперечисленные параметры не выходили за пределы допустимых значений).

Также оценка экспрессии микроРНК проводилась методом ПЦР в реальном времени. Для этого выделенная тотальная РНК, включающая микроРНК, была преобразована в кДНК с использованием набора miScript II RT (Qiagen), в соответствии с протоколами производителя. Набор miScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen) использовали для приготовления реакционной смеси и постановки ПЦР в реальном времени. Реакцию ПЦР проводили на термоциклере CFX96 (Bio-Rad, США) в следующей последовательности: 15 минут при 95°C, далее 40 циклов по 15 секунд при 94°C, по 30 сек при оптимизированной температуре отжига праймеров (52-60°C) и по 30 сек при 70°C. В качестве эндогенного контроля для образцов ткани использовали SNORD68, для плазмы крови cel-miR-39.

Выделенную из тканей эндометрия тотальную РНК также использовали для исследования экспрессии генов. Для анализа брали 500 нг РНК каждого образца тканей. С помощью обратной транскрипции была синтезирована целевая кДНК, которая были фрагментирована, полученные фрагменты метили биотином согласно протоколу производителя (Affymetrix, США). Экспрессия

генов определялась методом гибридизации на микрочипах (GeneChip Human Exon 1.0 ST Arrays, Affymetrix). Реакцию проводили на 60 об/мин, при 45°C, в течении 17 ч. Микрочипы затем промывали и окрашивали при помощи Fluidics Station 450 (Affymetrix, США). Далее чипы анализировали при помощи лазерного сканера Affymetrix GeneChip 3000 7G (США). Получение файлов с изображениями микромассивов (DAT) осуществляли с помощью пакета программ Affymetrix GeneChip Command Console (version 0.0.0.676, Affymetrix). Анализ данных производили при помощи пакета программ Expression Console и Transcriptome Analysis Console (Affymetrix). Для выявления межгрупповых отличий в экспрессии генов использовали критерий ANOVA и поправку на множественные сравнения.

2.3.2 Биоинформационная обработка данных

Анализ структуры, качества и соответствия целевой длине прочтений проводили с использованием программы Fast QC. Последовательности нуклеотидов, полученные в результате секвенирования, подвергались процессингу при помощи программы Cutadapt 1.9.1 для удаления адаптеров, после чего рассчитывалось количество прочтений с адаптером и общее количество для оценки качества пробоподготовки и секвенирования и для возможности использования в дальнейшем анализе.

Выравнивание полученных последовательностей на референс мкРНК человека проводилось по базе данных miRBase версии 21 с использованием программы Bowtie 1.2. Сортировка, индексирование и слияние файлов для подсчета количества прочтений для дальнейшего анализа проводилась при помощи программы Samtools.

Оценку представленности каждой мкРНК в библиотеке и анализ дифференциальной экспрессии в группах с учетом множественных сравнений выполнялся в среде R при помощи пакета DeSeq2. Результаты анализа форматировались в табличном виде с указанием среднего количества прочтений для каждой мкРНК в группах сравнения, логарифма кратности

изменений (\log_2FC), стандартной ошибки кратности изменений и значения вероятности ошибки первого рода, скорректированного после поправки на множественные сравнения, для гипотезы об отсутствии различий в экспрессии для каждой мкРНК в анализируемых группах.

Для всех групп сравнения в модель включалась информация о принадлежности к группе и о пациенте, от которого был забран материал. В результате обработки данных были получены наборы дэ-мкРНК для различных групп сравнения: эутопический (Eu) и эктопический (Ec) эндометрий.

В каждой группе была проведена фильтрация наборов по следующим параметрам: достоверность отличий с учетом множественных сравнений ($p < 0,05$) и кратность изменений ($FC \geq 2$).

Поиск генов-мишеней для мкРНК проводился при помощи базы валидированных взаимодействий miRTarBase (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw>). Отбор мишеней проводился на основании информации о валидации взаимодействий мРНК-мкРНК двумя и более методами, в результате получали списки только тех генов-мишеней, для которых регуляторная роль мкРНК была экспериментально доказана. Анализ экспрессии генов проводили программой Transcriptome Analysis Console (Affymetrix, ThermoFisher). Обогащение путей внутриклеточной сигнализации и биологических процессов по базе данных KEGG (<http://www.genome.jp>) и Wik-ipathways (<http://www.wikipathways.org>) было проведено при помощи программы Cytoscape 3.4.09 и плагина JERETTO10.

2.3.3 Статистический анализ данных

Полученные данные исследования вносились в специально разработанную форму на основе электронных таблиц. Обработка данных проводилась с использованием статистических пакетов Statistica V10, SPSS Statistics 22 и R v.3.5.

Для количественных данных описательные статистики представлены в виде медианы (Median) и межквартильного интервала (IQR). Для оценки

значимости различий при сравнении двух групп применялся тест Вилкоксона-Манна-Уитни, при сравнении большего числа групп – тест Краскела-Уоллиса, данные о вероятности ошибки первого рода приводятся в столбце p-value. Критическим значением для отклонения нулевой гипотезы принималось значение $p\text{-value} = 0,05$. Для качественных признаков данные представлены в виде абсолютного числа и доли в процентах (n (%)). Для оценки статистической значимости различий долей применялся тест хи-квадрат Пирсона либо, при малом количестве наблюдений – точный тест Фишера. Критическим значением для отклонения нулевой гипотезы принималось значение $p\text{-value} = 0,05$. Данные о вероятности ошибки первого рода приводятся в столбце p-value.

Значения приводятся согласно рекомендациям для медицинских и биологических исследований.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиническая характеристика обследованных больных ретроцервикальным эндометриозом

В данной работе, для решения поставленных задач, проведен сравнительный анализ результатов обследования и лечения 180 пациенток, которые были разделены на три группы: основную группу (I группу) составили 120 пациенток с гистологически подтвержденным ретроцервикальным эндометриозом, две группы сравнения: (II группу) – 30 пациенток с трубно - перитонеальным бесплодием, (III группу) - 30 пациенток с миомой матки и полипом эндометрия ($n = 30$). III группа пациенток включена в исследование для молекулярной части исследования. У пациенток, включенных в группы сравнения, не выявлены признаки эндометриоза по данным лапароскопической операции.

Всем больным, включенным в исследование, проводилось оперативное лечение в плановом порядке в хирургическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – к.м.н. В.Д. Чупрынин).

В ходе исследования, в зависимости от степени распространения ретроцервикального эндометриоза и сочетания со смежной патологией матки (миомой) в одной подгруппе, I группа ($n=120$) пациенток разделена на 4 подгруппы: IA подгруппу составили пациентки с изолированным ретроцервикальным эндометриозом, IB подгруппу – пациентки с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с вовлечением толстой кишки, IC подгруппу – пациентки с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с эндометриоидной кистой яичника, ID – пациентки с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с миомой матки. Все 4 подгруппы составлены с равным количеством пациенток ($n=30$) в каждом из них.

Средний возраст пациенток в обеих группах исследования варьировал от 21 до 45 лет, что в I группе составил $33,75 \pm 5,25$ во II группе – 32 ± 6 ($p=0,06$). Данные о распределении пациенток, представленные в таблице 1,

свидетельствуют о преобладании женщин репродуктивного возраста в обеих группах исследования.

Таблица 1 - Распределение пациенток по возрасту

Группы \ Возраст	(19-35)		(36 – 45 лет)	
	n	%	n	%
I группа	73	60,9	47	39,1
II группа	20	66,7	10	33,3

В группах исследования, у пациенток выявлен женский тип телосложения и правильное развитие вторичных половых признаков. Анализ индекса массы тела у обследованных женщин показал, что в основной группе пациенток ИМТ составил $21 \pm 3,75$ кг, в группе сравнения 23 ± 5 кг ($p > 0,05$).

При анализе перенесенных экстрагенитальных заболеваний у пациенток групп сравнения, обращает внимание высокая частота детских инфекций (краснуха, корь, скарлатина, ветряная оспа), что составляет 95,6%, однако достоверных различий в исследуемых группах не выявлено.

Данные перенесенных экстрагенитальных заболеваний у пациенток исследуемых групп, представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Экстрагенитальные заболевания у пациенток I и II групп

Заболевания	I группа (n=120)		II группа (n=30)		χ^2
	n	%	n	%	
Органов зрения	4	3,3	0	0	0,704
Эндокринной системы	1	0,8	0	0	1,000
Сердечно-сосудистой системы	23	19,1	2	6,6	0,171
Желудочно-кишечного тракта	54	45	9	30	0,200
Мочевыделительной системы	23	19,1	2	6,6	0,166
Вегетативная нервная система	37	30,8	4	13,3	0,197

Обращает внимание достоверное преобладание заболеваний желудочно-кишечного тракта (хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, хронический панкреатит, холецистит, колит и запоры) у пациенток I группы - у 54/120, что составляет 45% ($p < 0,001$).

Также, у пациенток I группы выявлена высокая частота заболеваний мочевыделительной системы - у 23/120 пациенток (19,1%), что проявлялось хроническим циститом, пиелонефритом и нефроптозом ($p < 0,001$).

Структура сердечно – сосудистая была представлена гипертонической болезнью, варикозным расширением вен нижних конечностей, которые наиболее часто встречались у пациенток I группы - у 23/120 (19,1%), напротив пациенток II группы – у 2/30 (6,6%) ($p > 0,05$).

Обращает внимание чрезвычайно высокая частота ($n=37/120$) (30,8%) ($p < 0,001$) соматоформной дисфункции вегетативной нервной системы у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом, которая проявлялась «чувством сердцебиения».

При сравнительном анализе групп исследования отмечено, что хронические экстрагенитальные заболевания в I группе встречались в 2 раза чаще, чем в группе сравнения (рис. 1).

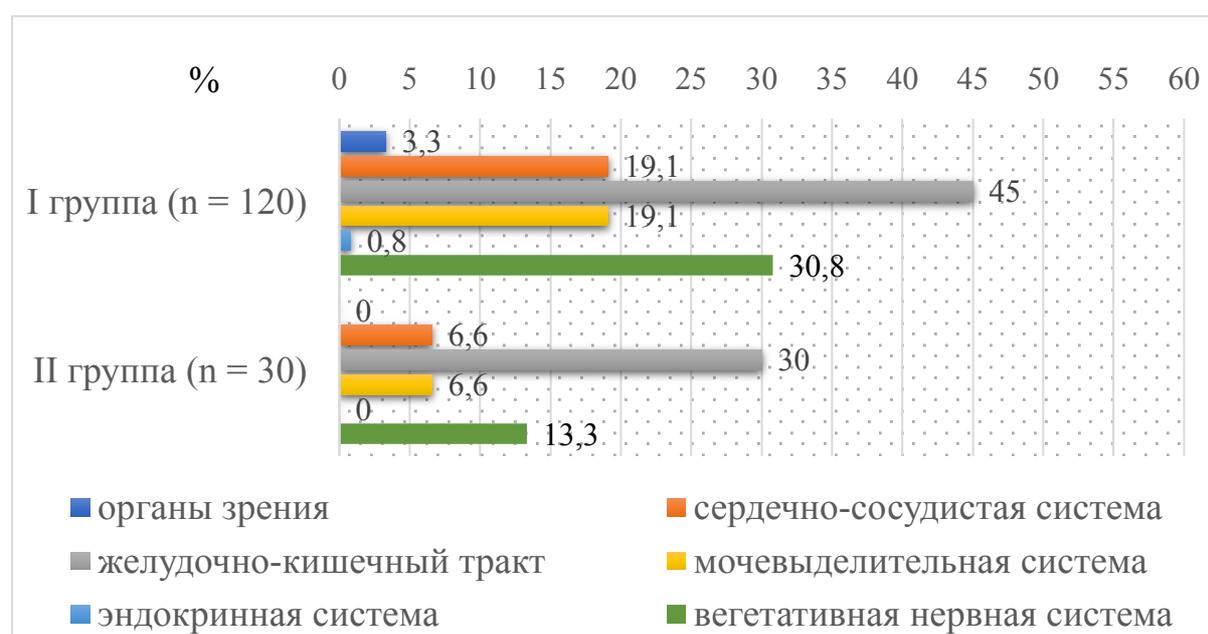


Рисунок 1. Экстрагенитальные заболевания у пациенток I и II групп

($p < 0,05$).

При поступлении пациенток на хирургическое лечение, все перечисленные экстрагенитальные заболевания были в стадии ремиссии и не являлись противопоказанием для операции.

Данные о перенесенных оперативных вмешательствах у пациенток двух групп сравнения, представлены в таблице 3.

В структуре перенесенных оперативных вмешательств, во II группе пациенток, преобладали как экстрагенитальные – у 16,6% ($n=5/30$), так и гинекологические – у 36,6% ($n=11/30$).

Таблица 3 - Сравнение I и II групп по перенесенным оперативным вмешательствам

Операции в анамнезе	I группа (n=120)		II группа (n=30)		χ^2
	n	%	n	%	
Экстрагенитальные	19	15,8	5	16,6	0,255
Гинекологические	18	15	11	36,6	0,038

Анализ перенесенных экстрагенитальных оперативных вмешательств выявил, что наиболее часто пациентки подвергались аппендэктомии: в I группе у 16/120 (13,3 %) женщин, во II группе – 3/30 (10%). Кроме того, у пациенток I группы была выполнена холецистэктомия у 2/120 (1,6%), гемморойдэктомия у 1/120 (0,8%) (рис. 2).

Следует отметить, наличие таких оперативных вмешательств в анамнезе у пациенток II группы, как диагностическая лапароскопия по поводу острого живота у 1/30 (3,3%) и тиреоидэктомия у 1/30 (3,3%).

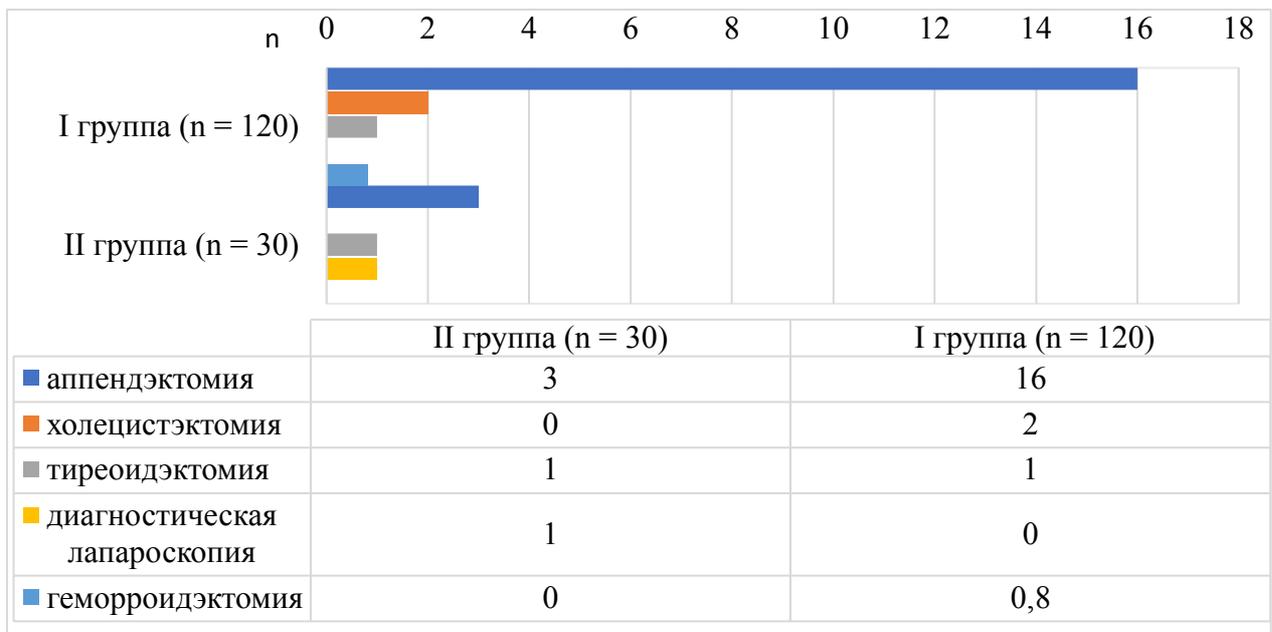


Рисунок 2. Экстрагенитальные оперативные лечения у пациенток I и II групп ($p > 0,05$).

Согласно проведенному анализу перенесенных оперативных вмешательств на репродуктивных органах малого таза, отмечена высокая частота выполненных ранее гинекологических операций в I группе исследования у 49/120 (40,8%), во II группе у 8/30 (26,6%) пациенток ($p=0,003$).

В анамнезе у 11/120 (9,1%) пациенток в I группе и у 2/30 (6,6%) во II группе, отмечены 2 и более перенесенных гинекологических операций, однако достоверных отличий не выявлено ($p > 0,05$).

Анализ оперативных доступов в анамнезе у пациенток выявил, что лапароскопический доступ применен у 19/120 (15,8%) пациенток в I группе в количестве 30 случаев, у 6/30 (20%) пациенток во II группе в количестве 6/30 случаев; лапаротомия у 14/120 (11,6%) в I группе, у 2/30 (6,6%) во II группе ($p > 0,05$) (рис. 3).

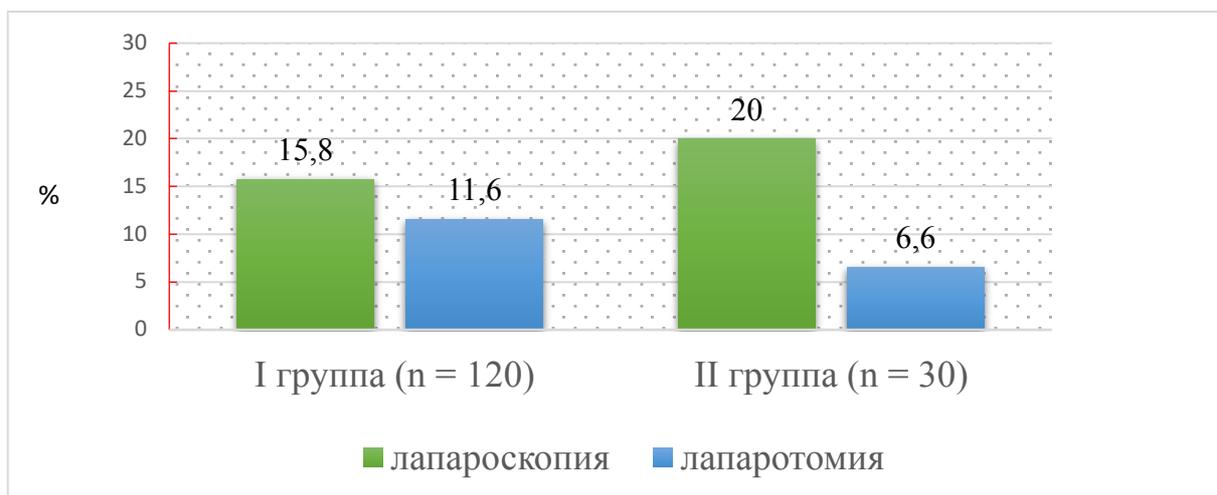


Рисунок 3. Оперативные доступы в анамнезе у пациенток I и II групп

В структуре перенесенных оперативных вмешательств в сравниваемых группах преобладало кесарево сечение, в I группе – у 14/120 (11,6%), во II группе – у 2/30 (6,6%).

Данные о перенесенных оперативных вмешательствах на органах малого таза представлены на рисунке 4.

В структуре причин перенесенных гинекологических операций у пациенток I группы преобладали доброкачественные новообразования яичников – у 8/120 (6,6%) и гидросальпинкс у 3/120 (2,5%). У пациенток I группы в анамнезе были выполнены: иссечение и коагуляция очагов наружного генитального эндометриоза у 5/120 (4,1%) пациенток, миомэктомия у 3/120 (2,5%), конизация шейки матки у 8/120 (6,6%).

Так, во II группе были выполнены сальпингонеостомия и рассечение неполной внутриматочной перегородки в равных количественных и процентных соотношениях – 2/30 (6,6%) и 2/30 (6,6%) соответственно.

Следует отметить частоту выполненных отдельных диагностических выскабливаний стенок полости матки и эндоцервикса, в I группе – 12/120 (10%), во II группе – 2/30 (6,6%).

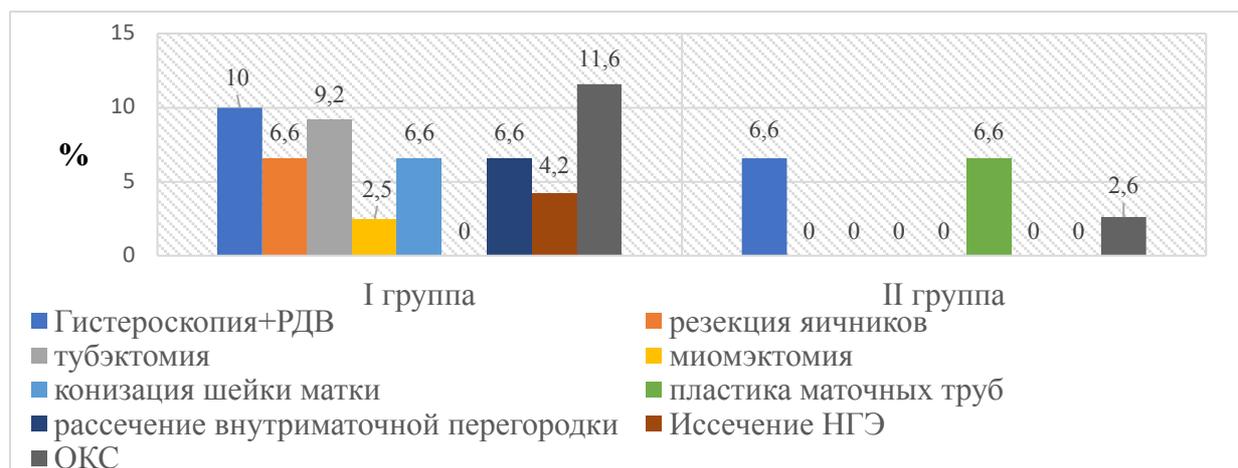


Рисунок 4. Гинекологические операции в анамнезе у пациенток I и II групп

Анализ менструальной функции и половой дебют пациенток сравниваемых групп представлен в таблице 4. Не было выявлено статистически значимых различий ни по одному из параметров.

Таблица 4 - Сравнение менструальной функции у пациенток в I и II группах

Показатели	I группа (n=120)	II группа (n=30)	P
Возраст менархе (лет)	13,5±1,4	12,8±0,9	>0,05
Длительность менструальных кровотечений (дней)	5,2±1,5	5,3±1,2	>0,05
Длительность менструального цикла (дней)	28,3±2,0	28,2±1,8	>0,05
Возраст начала половой жизни (лет)	19,3±3,3	19,1±3,5	>0,05

Возраст менархе не отличался в обеих группах исследования и составил 13,1±1,1 лет. Менструальный цикл установился в течение 1 года. В среднем, длительность менструальных кровотечений составил 5,2±1,1 дней; длительность менструального цикла – 28,2±1,9 дней.

Средний возраст начала половой жизни в группах не отличался, составил 19,2±3,4 лет.

Анализ менструальной функции у пациенток сравниваемых групп представлен в таблице 5.

Обращает внимание достоверно большое количество пациенток, отмечающих жалобы на болезненные менструации: у 67/120 (55,8%) пациенток I группы, 5/30 (16,6%) пациенток II группы ($p < 0,001$). Обильные и умеренные менструальные кровотечения отмечены у 42/120 (35%) и у 72/120 (60%) пациенток в I группе, во II группе у 3/30 (10%) и 23/30 (76,6%) пациенток соответственно ($p < 0,001$). Кроме того, пациентки I группы отмечали межменструальные кровянистые выделения из половых путей по типу «мажущих» - у 22/120 (18,3%) ($p < 0,005$).

Таблица 5 - Характер менструальной функции у пациенток I и II группы

Показатели	I группа (n=120)		II группа (n=30)		P
	n	%	n	%	
Умеренные менструальные кровотечения	72	60	23	76,6	0,385
Обильные менструальные кровотечения	42	35	3	10	0,001
Скудные менструальные кровотечения	6	5	3	10	0,297
Безболезненные менструации	67	55,8	5	16,6	0,001
Межменструальные кровянистые выделения по типу «мажущих»	22	18,3	0	0	0,005
«Мажущие» кровянистые выделения до менструации	21	17,5	2	6,6	0,005
«Мажущие» кровянистые выделения после менструации	19	15,8	1	3,3	0,005

При анализе генеративной функции пациенток отмечена высокая частота бесплодия в I группе у 39/120 (32,5%) пациенток. Так первичное бесплодие выявлено у 14/120 (11,6%) пациенток I группы и у 13/30 (43,3%) II группы. Частота вторичного бесплодия в I группе составила 25/120 (20,8%), во II группе – 17/30 (56,7%) ($p = 0,055$).

Анализ генеративной функции сравниваемых групп представлен в таблице 6 (рис 5).

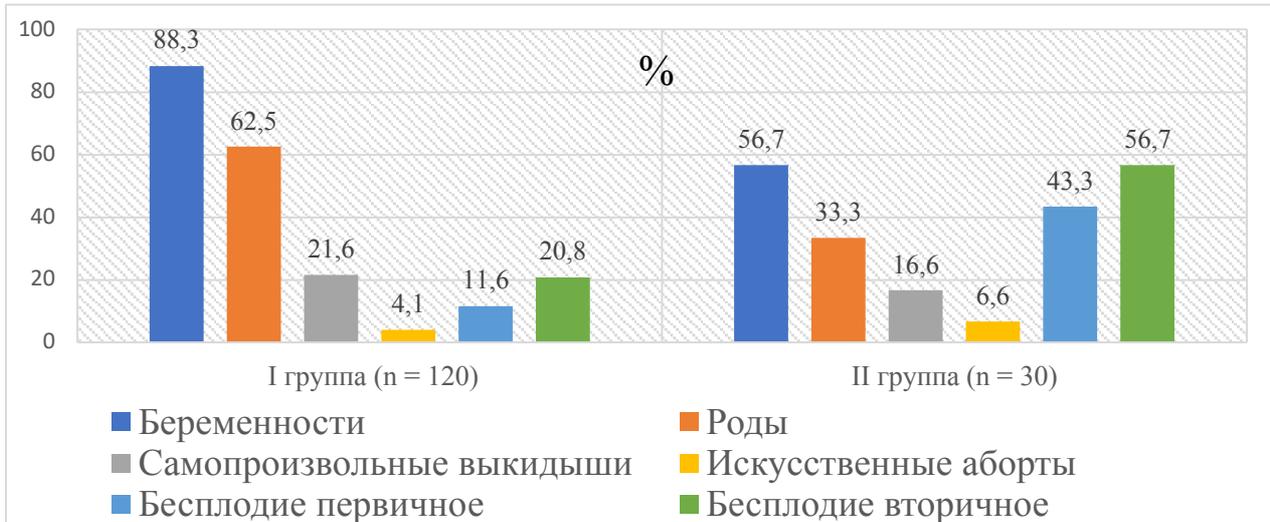


Рисунок 5. Репродуктивная функция обследованных пациенток.

Таблица 6 - Анализ репродуктивной функции пациенток I и II групп исследования

Показатели		I группа	II группа	P
Количество беременностей	n	106	17	0,001
	%	88,3	56,7	
Роды	n	75	10	0,04
	%	62,5	33,3	
Самопроизвольное прерывание беременности	n	26	5	0,001
	%	21,6	16,6	
Искусственное прерывание беременности	n	5	2	0,684
	%	4,1	6,6	
Бесплодие первичное	n	14	13	0,881
	%	11,6	43,3	
Бесплодие вторичное	n	25	17	0,001
	%	20,8	56,6	

В анамнезе обследованных женщин у 106/120 (88,3%) I группы и у 17/30 (56,7%) II группы исследования отмечены самостоятельно наступившие беременности от 1 до 4 с разными исходами ($p=0,001$). Так, в I группе у 75/120 (62,5%) женщин, беременность завершилась родами, во II группе у 10/30

(33,3%) ($p=0,04$). Следует отметить, что в группе женщин с эндометриозом отмечено наибольшее количество беременностей завершившихся родами.

В 26 (24,5%) случаях I группе и в 5 (29,4%) во II группе беременность завершилась самопроизвольным прерыванием на ранних сроках ($p=0,001$). Искусственное прерывание беременности на ранних сроках отмечено в I группе у 5 пациенток (4,7%), во II группе у 2 (11,8%) ($p > 0,05$).

Учитывая критерии включения пациенток в исследование, у наблюдаемых женщин в анамнезе отмечены только воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) и инфекции, передаваемые половым путем, данные представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Гинекологические заболевания в анамнезе у женщин I и II группы исследования

Показатели	I группа (n=120)	II группа (n=30)	<i>p</i>
Воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ)	13 (10,8%)	3 (10%)	$>0,05$
Инфекции передаваемые половым путем (ИППП)	7 (5,8%)	2 (6,6%)	$>0,05$

Характеристика обследованных женщин с ретроцервикальным эндометриозом

Возрастная категория пациенток в 4 подгруппах с ретроцервикальным эндометриозом составила от 21 до 45 лет, средний возраст в подгруппах достоверно не отличался и составил $33,75 \pm 3,37$ ($p=0,06$).

Основными жалобами пациенток IA подгруппы (ретроцервикальный эндометриоз) при госпитализации были: отсутствие наступления беременности от 1 до 2 лет у 26/30 (86,6%) и тянущие боли в нижних отделах живота периодического характера у 29/30 (96,6%) ($p<0,001$) женщин.

У пациенток IB подгруппы (ретроцервикальный эндометриоз с вовлечением толстой кишки), основными жалобами при госпитализации были: боли при половых контактах у 16/30 (53,3%) пациенток ($p < 0,001$), кровянистые выделения из прямой кишки во время менструации у 8/30 (26,6%) в сочетании со значительным ухудшением общего самочувствия. При детализации жалоб, пациентки также отмечали вздутие живота и послабление стула до и во время менструации у 18/30 (60%) и 12/30 (40%) соответственно ($p < 0,001$). Диарея чередовалась с частыми запорами вне менструации, в связи с чем пациентки неоднократно обращались к хирургу, колопроктологу, гастроэнтерологу.

Пациентки IV подгруппы (ретроцервикальный эндометриоз в сочетании с эндометриодными кистами), при поступлении предъявляли жалобы на боли в нижних отделах живота с иррадиацией в промежность - у 9/30 (30%), на область крестца - у 14/30 (46,6%), в нижние конечности - у 7/30 (23,3%) ($p < 0,001$).

У пациенток II подгруппы (ретроцервикальный эндометриоз в сочетании с миомой матки) отмечено сочетание таких симптомов, как обильные менструации у 20/30 (66,6%), «мажущие» выделения из половых путей коричневого цвета до и после менструации у 9/30 (30%), тянущие боли в нижних отделах живота периодического характера у 12/30 (40%) женщин, явились основными жалобами при госпитализации ($p < 0,001$).

Ретроцервикальный эндометриоз явился случайной диагностической находкой на профилактических осмотрах по данным клинико – инструментальных исследований у 5/30 (16,6%) – IA и у 4/30 (13,3%) пациенток II подгрупп с бессимптомным течением заболевания.

Все пациентки основной группы характеризовали болевой синдром как комплексное проявление заболевания в сочетании со слабостью, нарушением сна, снижением трудоспособности, депрессивным состоянием.

Одной из основных жалоб у пациенток была диспареуния, что выявлено у 22/30 (73,3%) IB подгруппы и у 17/30 (56,6%) ($p < 0,001$) IA подгруппы.

При анализе перенесенных экстрагенитальных заболеваний, выявлены статистически значимые различия в подгруппах, данные представлены в таблице 8.

Обращает на себя внимание высокая частота заболеваний желудочно-кишечного тракта во всех подгруппах, проявляющаяся гастроэнтероколитом, наиболее часто у пациенток IA подгруппы – у 19/30 (63,3%) и IG подгруппы – у 16/30 (53,3%) ($p < 0,05$).

Таблица 8 - Перенесенные экстрагенитальные заболевания у пациенток IA – IG подгрупп

Заболевания	IA (n=30)		IB (n=30)		IV (n=30)		IG (n=30)		P
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Миопия	0	0	1	3,3	3	10	0	0	$>0,05$
Варикозное расширение вен нижних конечностей	4	13,3	5	16,6	5	16,6	9	30	$>0,05$
Гипертоническая болезнь	0	0	7	23,3	3	10	1	3,3	$<0,05$
Гастродуоденит, колит	19	63,3	9	30	10	33,3	16	53,3	$<0,05$
Циститы	3	10	4	13,3	5	16,6	4	13,3	$>0,05$
Эутиреоидный зоб	3	10	4	13,3	5	16,6	4	13,3	$>0,05$

Анализ менструальной функции пациенток I группы представлен в таблице 9.

Таблица 9 - Менструальная функция пациенток IA – IG подгрупп

Подгруппы	IA (n=30)		IB (n=30)		IV (n=30)		IG (n=30)		P
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Умеренные менструации	24	80	18	60	21	70	5	16,6	$>0,05$
Обильные менструации	4	13,3	6	20	7	23,3	25	83,3	$<0,05$
Скудные менструации	2	6,6	6	20	2	6,6	0	0	$>0,05$
Белозеленные менструации	4	13,3	8	26,6	19	63,3	5	16,6	$>0,05$
Межменструальные кровянистые выделения	11	36,6	8	26,6	14	46,6	17	56,6	$<0,05$
Кровянистые выделения по типу «мажущих» до менструации	7	23,3	3	10	5	16,6	2	6,6	$0,05$

Кровянистые выделения по типу «мажущих» после менструации	4	13,3	3	10	4	13,3	5	16,6	0,05
---	---	------	---	----	---	------	---	------	------

При сравнительном анализе менструальной функции пациенток отмечены некоторые статистически значимые различия между подгруппами. Так, средняя длительность менструального цикла в исследуемых подгруппах составила $28,71 \pm 5,10$ дней. Наиболее длительные менструальные кровотечения отмечены в IB и IG подгруппах, что составило $7,67 \pm 2,12$ дней ($p=0,02$). При анализе менструальных кровотечений, у пациенток IG подгруппы ($n=25/30$) (83,3%) характеризованы как обильные ($p<0,001$).

Анализ репродуктивной функции пациенток приведен в таблице 10.

Таблица 10 - Репродуктивная функция пациенток IA – IG подгрупп

Показатели		Подгруппы				P
		IA	IB	IV	IG	
Количество беременностей	n	28	25	27	26	0,221
	%	93,3	83,3	90	86,6	
Роды	n	17	14	13	14	0,002
	%	56,6	46,6	43,3	46,6	
Самопроизвольное прерывание беременности	n	6	9	12	9	0,42
	%	20	30	40	30	
Искусственное прерывание беременности	n	5	2	2	3	0,368
	%	16,6	6,6	6,6	10	
Бесплодие первичное	n	2	5	3	4	0,194
	%	6,6	16,6	10	13,3	
Бесплодие вторичное	n	5	6	11	8	0,46
	%	16,6	20	36,6	26,6	

При оценке репродуктивной функции пациенток статистически значимые различия отмечены только по количеству родов, самое большое - у пациенток IA подгруппы – у 17 (56,6%), наименьшее количество родов у пациенток IV подгруппы - у 13/30 пациенток (43,3%) ($p<0,005$). В анамнезе у пациенток IV

подгруппы самопроизвольных абортов на ранних сроках беременности в два раза больше, чем в IA подгруппе – у 12/30 (40%) и у 6/30 (20%) соответственно ($p > 0,05$).

При анализе перенесенных гинекологических заболеваний, во всех подгруппах I группы наиболее частой патологией явилось бесплодие - у 39/120 (32,5%) пациенток. Первичное бесплодие отмечено у 14/120 (11,6%) пациенток сравниваемых подгрупп, наибольшее число в подгруппе в IB - у 5/30 (16,6%) женщин ($p > 0,05$). Частота вторичного бесплодия в сравниваемых подгруппах составила – 25/120 (20,8%), наибольшее из которых у 11/30 (36,6%) пациенток IB подгруппы и у 8/30 (26,6%) пациенток II подгруппы ($p > 0,05$).

Данные о перенесенных гинекологических заболеваниях приведены в таблице 11. Следует отметить, что у пациенток 4/30 (13,3%) IB подгруппы и у 1/30 (3,3%) IB подгруппы, в анамнезе выполнялись оперативные вмешательства по поводу наружного генитального эндометриоза, в объеме иссечения и коагуляции эндометриоидных очагов.

Таблица 11 – Перенесенные гинекологические заболевания у пациенток IA – II подгрупп

Показатели	IA подгруппа (n=30)		IB подгруппа (n=30)		IV подгруппа (n=30)		II подгруппа (n=30)		P
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Доброкачественные заболевания шейки матки	3	10	4	13,3	1	3,3	-	-	$>0,05$
Гидросальпинкс (односторонний)	1	3,3	-	-	-	-	2	6,6	$>0,05$
Эндометриоз (хирургическое лечение)	-	-	4	13,3	1	3,3	-	-	$>0,05$
Доброкачественные новообразования яичников	-	-	4	13,3	3	10	1	3,3	$>0,05$
Миома матки	1	3,3	1	3,3	-	-	1	3,3	$>0,05$

Таким образом, у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом, в зависимости от степени распространения, выявляются клинические, менструальные и репродуктивные особенности: тянущие боли в нижних отделах живота, диспареуния, вздутие и послабление стула во время менструации, вторичное бесподие, а также обильные менструальные кровотечения.

Клиническая характеристика пациенток III группы

Пациентки III группы были включены в исследование для сравнительного молекулярного анализа. Группу составили 15 пациенток с миомой матки и 15 с полипом эндометрия, поступивших для оперативного лечения в хирургическое отделение ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Средний возраст пациенток III группы, включенных в исследование, варьировал от 19 до 37 лет, составил $28,45 \pm 4,73$ ($p > 0,05$).

Индекс массы тела у обследованных женщин составил $22 \pm 2,43$ кг ($p > 0,05$).

При анализе перенесенных экстрагенитальных заболеваний у пациенток отмечены детские инфекции (краснуха, корь, скарлатина, ветряная оспа).

В структуре экстрагенитальных заболеваний отмечены заболевания желудочно-кишечного тракта (хронический гастрит) у 8 (26,6%) пациенток, заболевания органов зрения (миопия слабой степени) у 4 (13,3%) ($p < 0,05$).

При поступлении пациенток на хирургическое лечение, хронические заболевания были в стадии ремиссии.

Анализ перенесенных экстрагенитальных оперативных вмешательств выявил, что наиболее часто у пациенток выполнены: аппендэктомия у 6 (20%), тиреоидэктомия у 1 (3,3%), флебэктомия нижних конечностей у 1 (3,3%), холецистэктомия у 2 (6,6%) ($p = 0,005$).

В структуре перенесенных гинекологических оперативных вмешательств отмечены: тубэктомия у 3 (10%), полипэктомия у 5 (16,6%), миомэктомия у 6

(20%), раздельное диагностическое выскабливание стенок полости матки и эндоцервикса у 7 (23,3%) ($p=0,002$).

Во всех случаях перенесенных оперативных вмешательств у пациенток был применен лапароскопический доступ, в случаях малых оперативных вмешательств - операция производилась под контролем гистероскопии.

В структуре менструальной функции и полового дебюта выявлены следующие показатели: возраст менархе составил $13,3 \pm 1,3$ лет; менструальный цикл установился в течение 1 года; средняя длительность менструальных кровотечений - $5,3 \pm 1,2$ дней; длительность менструального цикла – $28,7 \pm 1,3$ дней; средний возраст начало половой - $20,1 \pm 2,3$ лет.

В структуре гинекологических заболеваний, у пациенток в анамнезе выявлены воспалительные заболевания органов малого таза у 3 (10%) и инфекции, передаваемые половым путем у 3 (10%).

При поступлении на хирургическое лечение, пациентки предъявляли жалобы на: тянущие боли в нижних отделах живота у 23 (76,6%), обильные менструации у 3 (10%), болезненные менструации у 4 (13,3%) ($p=0,001$).

В анамнезе обследованных женщин у всех пациенток отмечены самостоятельно наступившие беременности от 1 до 3 с разными исходами. Следует отметить, что первая беременность завершилась родами у 24 (80%) пациенток, у 3 (10%) – внематочной беременностью и у 3 - неразвивающейся беременностью малого срока.

Таким образом, для пациенток с ретроцервикальным эндометриозом, характерными клиническими признаками явились: средний репродуктивный возраст, различие в симптомах в зависимости от распространения эндометриоза (тянущие боли в нижних отделах живота, диспареуния, вздутие и послабление стула во время менструации), а также соматоформная дисфункция вегетативной нервной системы.

3.2 Результаты клинико - инструментальных методов исследования

Ультразвуковое исследование органов малого таза

Обладающее высокой чувствительностью и удобством скринингового метода ультразвуковое исследование (УЗИ) при эндометриозе органов малого таза было выполнено 115 больным ретроцервикальным эндометриозом, проходившим обследование и лечение в хирургическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Последовательно выполняли сканирование брюшной полости, забрюшинного пространства, органов малого таза через переднюю брюшную стенку, а также трансвагинальным датчиком.

Следует отметить, что ретроцервикальный эндометриоз на ранних стадиях довольно сложно оценить при УЗИ, ввиду отсутствия капсул и плотности эндометриодной ткани.

Проведен сравнительный анализ данных ультразвукового исследования и лапароскопии в зависимости от распространения ретроцервикального эндометриоза, степени вовлечения в инфильтрат органов малого таза и выраженности спаечного процесса.

Инфильтрация ретроцервикальной клетчатки на сканограммах определялась в виде полулунной или овальной формы эхонегативной зоны от 1,0 до 4,5 см. Наиболее характерными акустическими признаками эндометриодных очагов были: плотное образование в ректовагинальной клетчатке, расположенного как за шейкой матки, так и эксцентрично по отношению к ней, с локальной болезненностью; неоднородной эхоструктурой образования; неровными и нечеткими контурами границ образования разных размеров (от 0,8 до 4,5 см). Эхогенность эндометриодных очагов довольно вариабельна, так гипоехогенное образование выявлено у 78/115 (67,8%) пациенток, средней эхогенности у 31/115 (26,9%) и повышенной – у 9/115 (7,8%) пациенток.

У пациенток IA подгруппы средний диаметр ретроцервикального эндометриоза по данным ТВУЗИ составил - 2,2см, по данным лапароскопии – 2,1см, результаты представлены на рисунке 6 ($p=0,001$).

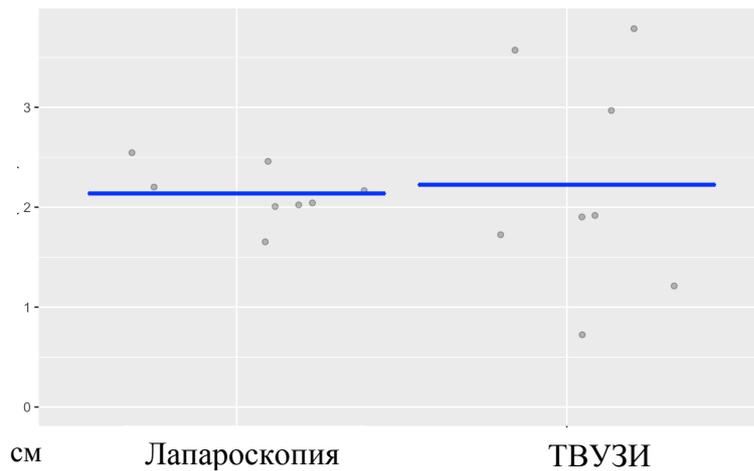


Рисунок 6. Сравнение размеров эндометриoidных очагов у пациенток IA подгруппы по данным ТВУЗИ и лапароскопии.

При изолированной форме ретроцервикального эндометриоза (IA подгруппа) чувствительность ТВУЗИ составила – 68,75%, специфичность – 91,12%, прогностичность положительного результата – 76,77%, прогностичность отрицательного результата – 87,11%.

При распространении эндометриoidного инфильтрата на стенку кишки, эндометриоз определялся в виде эхонегативной зоны овальной формы диаметром от 0,5 до 3,0 см и протяженностью от 0,6 см до 3,0 см (рисунок 7 а и б).

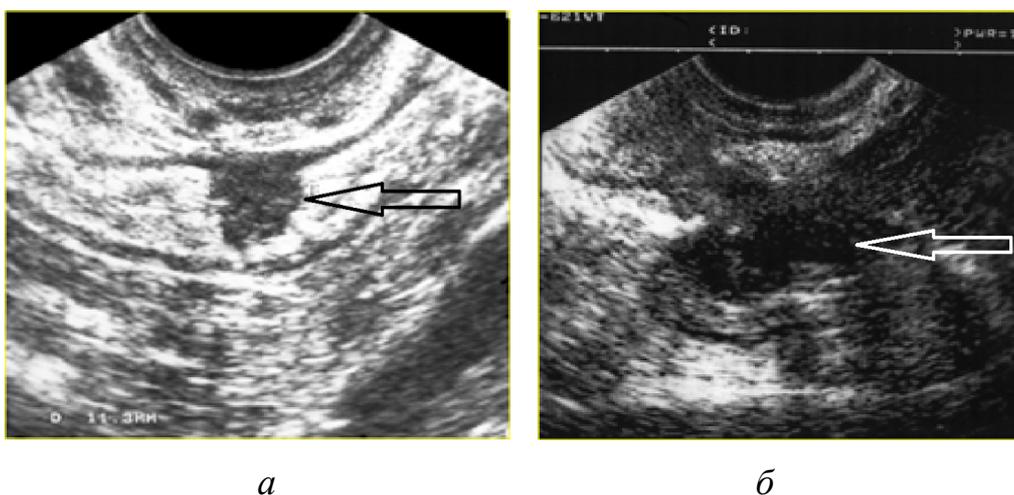


Рисунок 7. (а - Эхограмма эндометриоза прямой кишки; б - Эхограмма эндометриоза ректо-сигмоидного отдела толстой кишки).

Во время проведения ТВУЗИ, в области ретроцервикальной клетчатки отмечали болезненность при надавливании влагалищным датчиком 21/29 (72,4%) пациенток IB подгруппы.

Чувствительность ТВУЗИ у пациенток IB подгруппы составила – 87,3%, специфичность – 74,6%, прогностичность положительного результата – 77,8 %, прогностичность отрицательного результата – 56,8%.

Несоответствие ТВУЗИ и хирургического диагноза имело место у 3/30 (10,4%) пациенток. Ложноотрицательный результат был выявлен в случаях спаечной облитерации Дугласова пространства и фиксации передней стенки прямой кишки.

У пациенток IB подгруппы средний диаметр эндометриоидного инфильтрата по данным ТВУЗИ составил - 3,0см, по данным лапароскопии – 5,1см, результаты представлены на рисунке 8 ($p=0,001$).

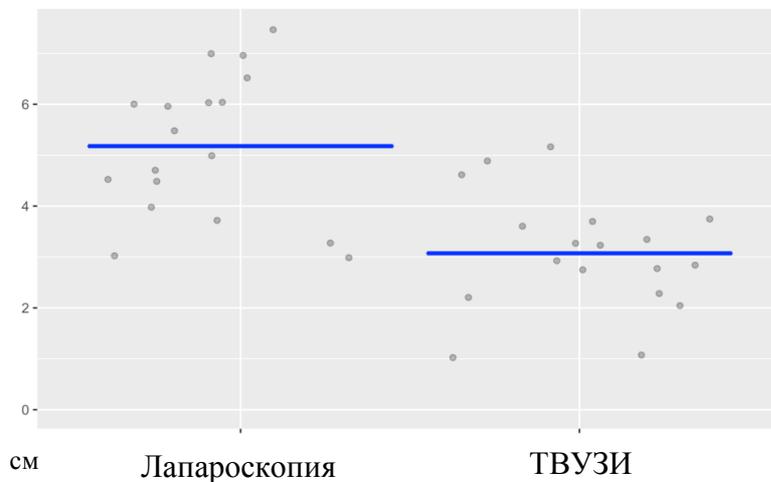


Рисунок 8. Сравнение размеров эндометриоидных очагов у пациенток IB подгруппы по данным ТВУЗИ и лапароскопии.

Эхографические признаки эндометриоидных кист у обследованных пациенток (IB подгруппа) были представлены: расположением опухолевидных образований кзади или по ребру матки, наличием утолщенной капсулы и мелкодисперсной взвеси.

Следует отметить, что эхографические данные у 26/29 (86,6%) пациенток с эндометриоидными кистами были подтверждены при лапароскопии. Однако,

отмечено расхождение предоперационных эхографических данных и хирургического диагноза у 4/29 (13,4%) пациенток с ложноотрицательным результатом. У этих пациенток эндометриоидная киста яичника была интерпретирована как функциональная киста и размеры образования составляли меньше 2,0см.

Как представлено на рисунке 9, при сравнении результатов ТВУЗИ и лапароскопии, средний диаметр эндометриоидных кист составил 4,1см, по данным лапароскопии 6,8см ($p=0,001$).

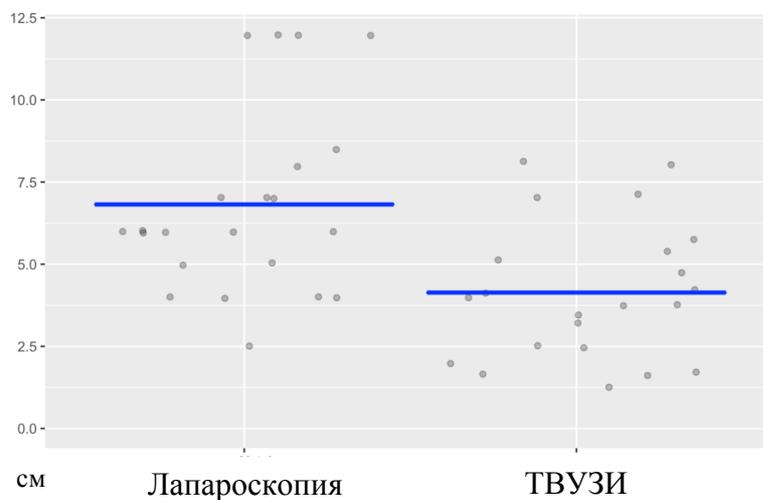


Рисунок 9. Сравнение размеров эндометриоидных кист у пациенток IV подгруппы по данным ТВУЗИ и лапароскопии.

При подсчете прогностической значимости ТВУЗИ у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с эндометриоидными кистами яичников (IV подгруппа) получены следующие данные: чувствительность теста – 95%, специфичность – 93,18%, прогностичность положительного результата – 89,13%, прогностичность отрицательного результата – 78,57%.

У пациенток с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с миомой матки (II подгруппа) несоответствие ТВУЗИ и хирургического диагноза имело место у большинства пациенток 17/28 (60,7%). Ложноотрицательный результат был выявлен в случаях множественной миомы матки, что вероятно затрудняло визуализацию очагов ретроцервикального эндометриоза.

У пациенток II подгруппы, средний диаметр эндометриoidных очагов по данным ТВУЗИ составил 2,6см, по данным лапароскопии 3,3см ($p=0,001$), результаты представлены на рисунке 10.

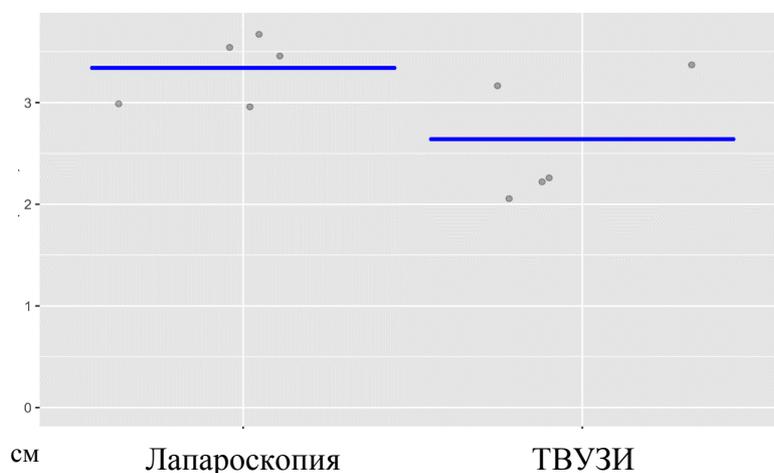


Рисунок 10. Сравнение размеров эндометриoidных очагов у пациенток II подгруппы по данным ТВУЗИ и лапароскопии.

Чувствительность ТВУЗИ для выявления ретроцервикального эндометриоза у пациенток II подгруппы составляла – 36,6%, специфичность – 67,82%, прогностичность положительного результата – 77,16%, прогностичность отрицательного результата – 66,72%.

Результаты ТВУЗИ по всем (IA-IIГ) подгруппам представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Информативность УЗИ у пациенток с ретроцервикальных эндометриозом

Подгруппа	Истинно положительный результат		Ложноотрицательный результат		Всего
	n	%	n	%	
IA	15	51,7	14	48,3	29
IB	27	89,6	3	10,4	29
IV	26	86,6	4	13,4	29
IIГ	11	39,3	17	60,7	28

Информативность УЗИ у пациенток была различной, зависела от локализации эндометриoidного очага. Так при эндометриoidных кистах

яичников и поражении кишки, информативность ТВУЗИ выше, чем при изолированной форме ретроцервикального эндометриоза.

Как известно, эндометриоз вызывает воспаление окружающих тканей, что приводит к формированию рубцовой ткани как тонких, так плотных и множественных. В нашем исследовании, спаечный процесс брюшной полости у пациенток мы классифицировали согласно системе разработанной Д.Н. Блаценко в 1956 г.

Анализ информативности УЗИ при спайках органов брюшной полости у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом представлен в таблице 13.

Таблица 13 - Информативность УЗИ при спаечном процессе органов брюшной полости у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом

Подгруппа	Истинно положительный результат		Ложноотрицательный результат		Всего
	п	%	п	%	
Отсутствие спаек	2	1,7	3	2,6	5
Одиночные	6	5,2	52	45,2	58
Множественные	19	16,5	15	13,1	34
Выраженные	10	8,7	8	7	18

Чувствительность ТВУЗИ для выявления спаечного процесса у больных ретроцервикальным эндометриозом составляла – 29,13%, специфичность – 60,0%, прогностичность положительного результата – 91,67%, прогностичность отрицательного результата – 3,12%.

Метод ТВУЗИ в нашем исследовании обладал достаточной прогностической значимостью для выявления ретроцервикального эндометриоза с вовлечением толстой кишки (ІВ подгруппа) и в сочетании с эндометриоидными кистами яичников (ІВ подгруппа). Однако сканирование изолированного ретроцервикального эндометриоза (ІА подгруппа) и в сочетании с миомой матки (ІГ подгруппа) оказалось наиболее затруднительным. Для выявления спаечного процесса органов малого таза, ТВУЗИ является малоинформативным методом исследования.

Вышеизложенное подтверждает необходимость применения дополнительных методов исследования, для планирования адекватного объема хирургического вмешательства.

Магнитно-резонансная томография

Для данной патологии МРТ является практически самым информативным неинвазивным методом исследования. Возможность значительной детализации патологического процесса и выявления нарушений анатомии органов малого таза на фоне распространенного инфильтративного эндометриоза, получаемая при МРТ, позволяет выставить правильный диагноз. Критериями оценки распространения эндометриоза были: локализация, размеры, структура патологического очага, глубина инвазии вовлеченного в патологический процесс органа, степень распространения эндометриоза в ректовагинальном пространстве, глубина инвазии в стенку толстой кишки с наличием или отсутствием поражения слизистой оболочки, наличие участков синхронного поражения толстой кишки.

При ретроцервикальном эндометриозе у пациенток диагностированы эндометриоидный инфильтрат в позадиматочном пространстве с вовлечением шейки матки (рисунок 11 а и б).

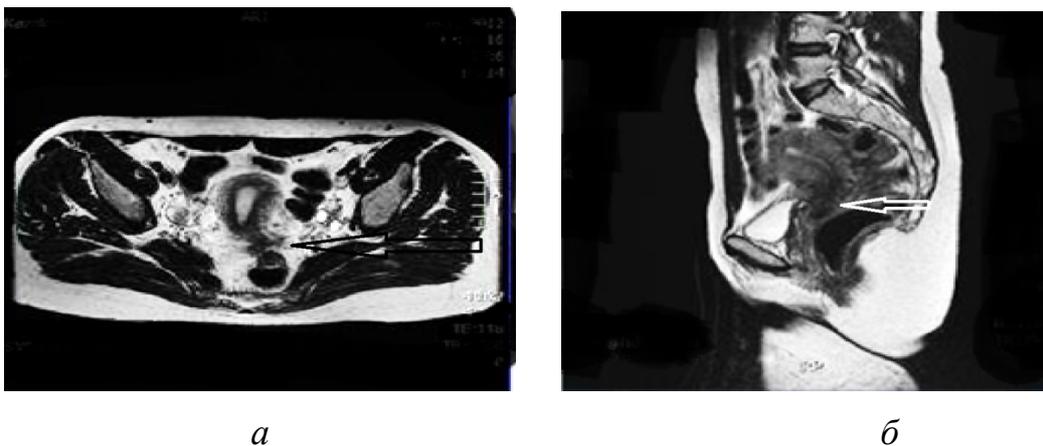


Рисунок 11. МРТ-картина ретроцервикального эндометриоза (а и б).
Примечание: стрелкой указан ретроцервикальный эндометриоидный инфильтрат.

В нашем исследовании, МРТ проведена 110/120 пациенткам (91,7%) с ретроцервикальным эндометриозом и была представлена в разных вариациях:

в виде объёмного образования с инфильтрацией задней стенки матки, широких связок матки, маточно-крестцовых связок, брюшины Дугласова пространства с фиксацией кишки и заднего свода влагалища, распространением на стенку кишки с или без признаков прорастания.

Проведен сравнительный анализ данных МРТ и лапароскопии в зависимости от распространения ретроцервикального эндометриоза, степени вовлечения в инфильтрат органов малого таза и выраженности спаечного процесса.

У пациенток IA подгруппы средний диаметр ретроцервикального эндометриоза по данным МРТ составил - 1,1см, по данным лапароскопии – 2,1см, результаты представлены на рисунке 12 ($p=0,001$).

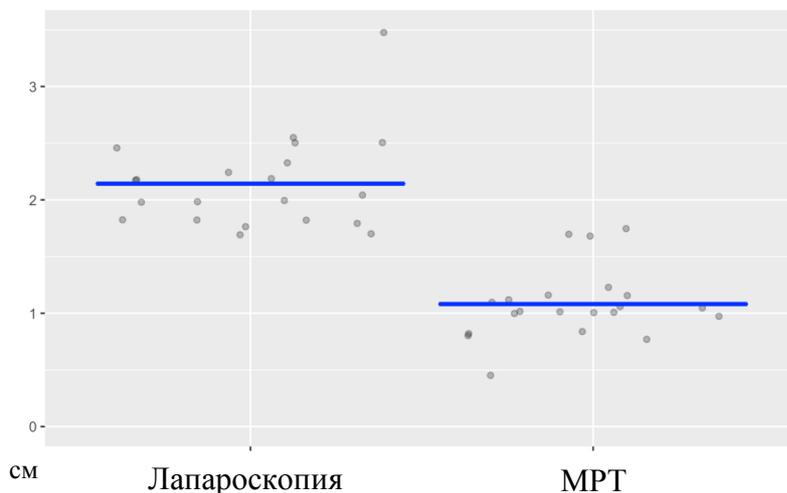


Рисунок 12. Сравнение размеров эндометриоидного очага при МРТ и лапароскопии у пациенток IA подгруппы

При изолированной форме ретроцервикального эндометриоза (IA подгруппа), чувствительность МРТ составила – 94,8%, специфичность – 92,3%, прогностичность положительного результата – 85,7%, прогностичность отрицательного результата – 77,2%.

При распространении эндометриоидного инфильтрата на стенку кишки (IB подгруппа), эндометриоз определялся в виде образования неправильной формы диаметром от 1.0 до 4,8 см. Вовлеченность кишки в инфильтративный

процесс до слизистого слоя выявлено у 6/30 пациенток, до подслизистого слоя - у 8/30 пациенток, до мышечного слоя у 11/30 пациенток. Средний размер эндометриоидного инфильтрата составил 3,4см, на лапароскопии – 5,4см, данные представлены на рисунке 13 ($p=0,001$).

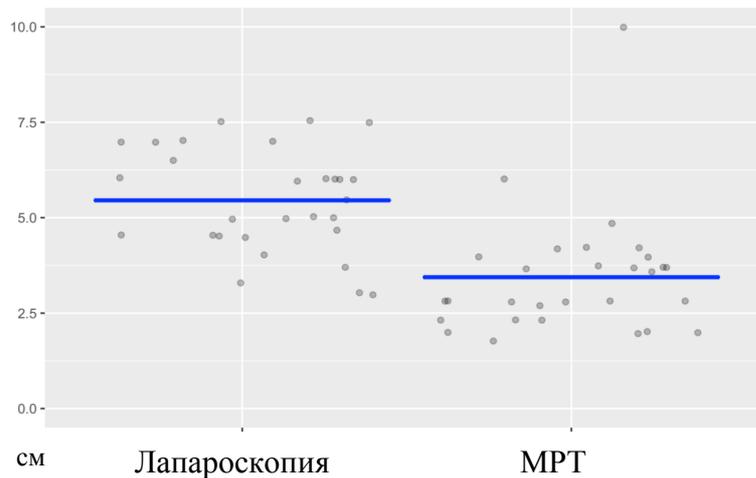


Рисунок 13. Сравнение размеров эндометриоидного очага при МРТ и лапароскопии у пациенток IB подгруппы

Чувствительность МРТ у данной подгруппы составила – 98,6%, специфичность – 89,4%, прогностичность положительного результата – 100,0 %, прогностичность отрицательного результата – 89,3%.

У пациенток с эндометриоидными кистами яичников (IB подгруппа), МРТ-картина была представлена образованием с плотной капсулой, кистозными включениями и геморрагическим содержимым.

Как представлено на рисунке 14, средний размер эндометриоидного очага у пациенток (IB подгруппа) по данным МРТ составил 3,4см, по данным лапароскопии 5,4 см, что указывает на то, что МРТ является точным методом для выявления патологических образований, однако степень распространенности патологического процесса и его точные размеры можно определить только интраоперационно.

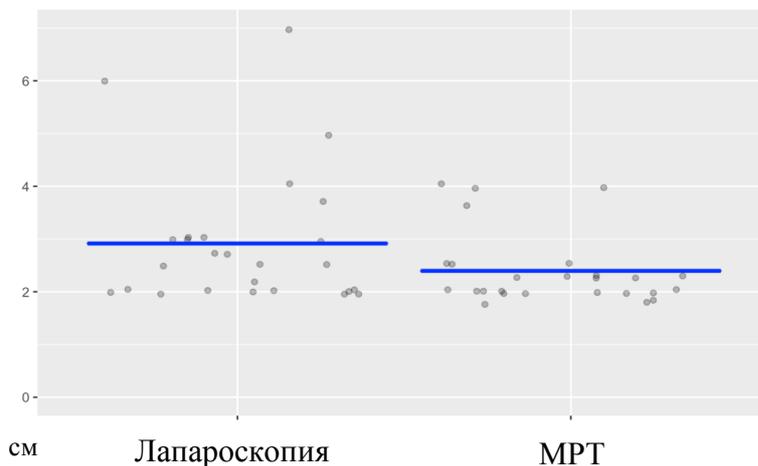


Рисунок 14. Сравнение размеров эндометриоидного очага при МРТ и лапароскопии у пациенток IV подгруппы

Следует отметить, что данные МРТ у всех пациенток с эндометриоидными кистами были подтверждены при лапароскопии.

При подсчете диагностической значимости МРТ у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с эндометриоидными кистами яичников (IV подгруппа) получены следующие данные: чувствительность теста – 97,4%, специфичность – 83,8%, прогностичность положительного результата – 98,8%, прогностичность отрицательного результата – 91,4%.

У пациенток с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с миомой матки (II подгруппа) несоответствие МРТ и хирургического диагноза имело место у 3/29 (10,4%) пациенток. Средний диаметр эндометриоидных очагов по данным МРТ составил 1,4 см, по данным лапароскопии 2,6 см ($p=0,001$), результаты представлены на рисунке 15.

Чувствительность МРТ для выявления ретроцервикального эндометриоза у пациенток II подгруппы составляла – 89,6%, специфичность – 77,3%, прогностичность положительного результата – 81,4%, прогностичность отрицательного результата – 73,8 %.

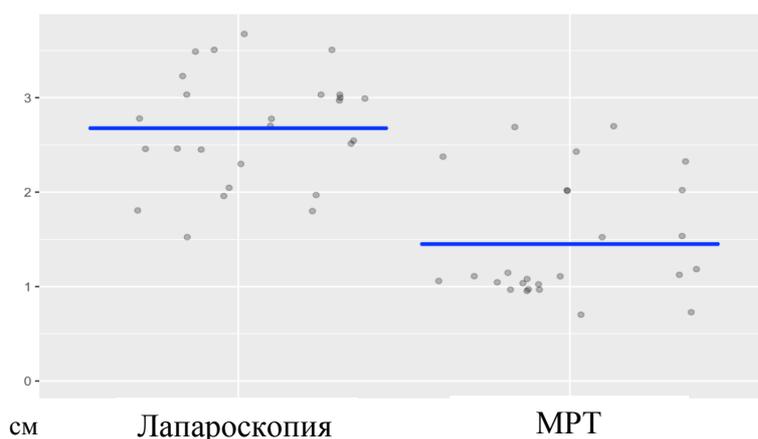


Рисунок 15. Сравнение размеров эндометриоидного очага при МРТ и лапароскопии у пациенток IB подгруппы

Однако, согласно нашим результатам, у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с миомой матки, а также у пациенток с изолированной формой ретроцервикального эндометриоза, ложноотрицательный результат МРТ составил 10,4% (у 3 / 29 пациенток) и 9,6% (2 / 21) соответственно. Анализ полученных результатов представлены в таблице 14 и 15

Таблица 14 - **Информативность МРТ у пациенток с ретроцервикальных эндометриозом**

Подгруппа	Положительный результат		Ложноотрицательный результат		Всего
	n	%	n	%	
IA	19	90,4	2	9,6	21
IB	30	100	0	0	30
IV	30	100	0	0	30
II	26	89,6	3	10,4	29

Таблица 15 - **Чувствительность и специфичность МРТ при ретроцервикальном эндометриозе**

Подгруппа	Чувствительность %	Специфичность %	Прогностичность положительного результата, %	Прогностичность отрицательного результата, %
IA	94,8	92,3	95,7	77,2
IB	98,6	89,4	100	89,3
IV	97,4	83,2	96,8	91,4
II	89,6	77,3	81,4	73,8

Как представлено на рисунке 16, средний размер ретроцервикальных очагов у пациенток всех подгрупп по данным МРТ составил 2,1 см, лапароскопии - 3,4 см ($p=0,001$).

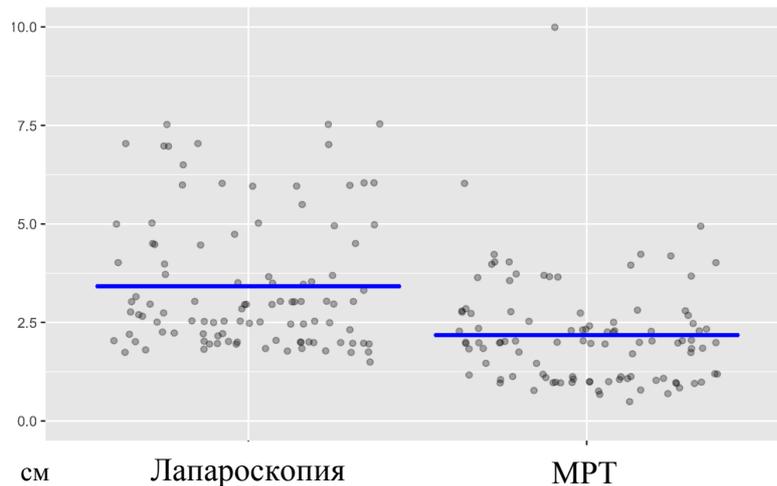


Рисунок 16. Сравнение размеров эндометриoidных очагов у пациенток всех подгрупп по данным МРТ и лапароскопии.

Нами проведен анализ информативности МРТ при спайках органов брюшной полости у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом, данные представлены в таблице 16.

Таблица 16 - Информативность МРТ при спаечном процессе органов брюшной полости у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом

Подгруппа	Истинно положительный результат		Ложноотрицательный результат		Всего
	п	%	п	%	
Отсутствие спаек	4	3,6	1	0,9	5
Одиночные	33	30	26	23,6	59
Множественные	16	14,6	13	11,8	49
Выраженные	9	8,2	8	7,3	17

Чувствительность МРТ для выявления спаечного процесса у больных ретроцервикальным эндометриозом составляла – 59,23%, специфичность – 20%,

прогностичность положительного результата – 94,44%, прогностичность отрицательного результата – 2,08%.

В результате проведенного исследования, нами выявлено совпадение интраоперационного диагноза с результатами МРТ у пациенток IB и IV подгрупп. Наибольшую диагностическую ценность МРТ имеет при выявлении эндометриоидных инфильтратов с распространением на стенку кишки или поражением яичников. Неоспоримым преимуществом МРТ является точность и высокая разрешающая способность, что позволяет определить характер патологического образования, локализацию, распространенность патологического процесса. С помощью МРТ органов малого таза можно диагностировать вовлеченность в инфильтрат серозной/мышечной стенки кишки. Это позволяет вовремя проводить менее травматичную операцию и избежать таких осложнений, как стеноз кишки. Однако, ТВУЗИ и МРТ являются малочувствительными

Таким образом, наиболее информативным из неинвазивных методов является магнитный резонанс (МР), обеспечивающий благодаря высокой разрешающей способности МР-томографа отличную визуализацию органов малого таза и их структуры. Однако при одиночных спайках органов малого таза как ТВУЗИ так и МРТ являются малоинформативными. Большую диагностическую ценность приобретает метод при множественных и выраженных спайках малого таза. Это имеет важное значение, т.к. общеизвестно: спаечный процесс органов малого таза является косвенным признаком наличия эндометриоза в малом тазу.

Колоноскопия

Всем пациенткам IB подгруппы (n=30) с учетом клинических проявлений, данных ТВУЗИ и МРТ органов малого таза, проведена диагностическая колоноскопия. Во всех случаях, колоноскопия проводилась впервые и сочеталась с пункционной биопсией подозрительных очагов.

При характеристике эндоскопической картины внимание уделяли наличию инфильтрата, пролабирующего в просвет кишки, сужение просвета или регидность толстой кишки в области поражения.

Анализируя уровень поражения кишки по данным колоноскопии, у 7/30 (23,3%) пациенток патологический очаг локализовался в верхнеампулярном отделе прямой кишки, у 9/30 (30%) пациенток в ректосигмоидном отделе прямой кишки, у 8/30 (26,7%) - в сигмовидной кишке, у 6/30 (20%) пациенток колоноскопия оказалась малоинформативной в диагностике эндометриоза.

По данным колоноскопии, вовлечение в эндометриоидный инфильтрат мышечно - серозного слоя толстой кишки отмечено у 6/30 (20%) пациенток, также у 6/30 (20,0%) пациенток до подслизистой оболочки, у 11/30 (36,7%) пациенток до слизистой оболочки. Расхождение интраоперационных данных с результатами колоноскопии отмечены преимущественно при поражении мышечно–серозного слоя и подслизистой оболочки толстой кишки, результаты сравнений представлены в таблице 17.

Таблица 17 - Анализ диагностической эффективности колоноскопии в определении глубины поражения толстой кишки эндометриозом

	Интраоперационная картина					
	Глубина поражения толстой кишки	Без прорастания	Слизистая оболочка	Подслизистый слой	Мышечно-серозный слой	Всего
Данные колоноскопии	Без прорастания	0(0%)	2(16,67%)	0(0%)	5(62,50%)	7 23,33%
	Слизистая оболочка	0(0%)	7(58,33%)	3(33,33%)	1(12,50%)	11 36,67%
	Подслизистый слой	0(0%)	1(8,33%)	5(55,56%)	0(0%)	6 20,00%
	Мышечно-серозный слой	1(100%)	2(16,67%)	1(11,11%)	2(25,00%)	6 20,00%
	Всего	1(100%)	12(100%)	9(100%)	8(100%)	30 100%

Также проанализированы результаты достоверных и косвенных признаков по данным колоноскопии в зависимости от локализации и глубины поражения эндометриозом толстой кишки. К достоверным признакам были отнесены: полиповидные разрастания в области эндометриоидного очага, очаговое втяжение с синюшным дном на слизистой оболочке толстой кишки. Достоверные признаки были подтверждены морфологическим исследованием биопсийного материала. К косвенным признакам были отнесены: подслизистое образование в стенке кишки и/или со стенозированием просвета, изменение подвижности слизистой оболочки над образованием и обеднение сосудистого рисунка (рисунки 17 и 18).



Рисунок 17. Диагностическая колоноскопия. Опухолевидная форма кишечного эндометриоза с гетеротопиями эктопического эндометриоза на слизистой оболочке толстой кишки.



Рисунок 18. Диагностическая колоноскопия. Инфильтративно-стенозирующая форма кишечного эндометриоза с ундуляцией слизистой кишки в области эндометриоидного инфильтрата.

Как представлено в таблице 18, колоноскопия позволила с равной степенью точности определить как достоверные, так и косвенные признаки

эндометриоза толстой кишки при поражении слизистой оболочки верхнеампулярного и ректосигмоидного отделов прямой кишки, однако выявлен ложноотрицательный результат в случае поражения слизистой оболочки сигмовидной кишки в 14,29%.

При поражении подслизистой оболочки, отмечена высокая эффективность обнаружения достоверных признаков (100%). Однако установлено, что колоноскопия не представляет высокой эффективности по обнаружению признаков эндометриоза при поражении мышечно – серозной оболочки толстой кишки.

Таблица 18 – Сравнительная характеристика эндоскопических признаков эндометриоза по данным лапароскопии и колоноскопии

Интраоперационные данные (лапароскопия)		Эндоскопические признаки (колоноскопия)			
Глубина поражения	Уровень поражения	Нет признаков	Достоверные	Косвенные	Всего
Без прорастания	Ректосигмоидный отдел прямой кишки	0(0%)	1(100%)	0(0%)	1(100%)
Слизистая оболочка	Верхнеампулярный отдел прямой кишки	0(0%)	0(0%)	3(100%)	3(100%)
Слизистая оболочка	Ректосигмоидный отдел прямой кишки	0(0%)	2(100%)	0(0%)	2(100%)
Слизистая оболочка	Сигмовидная кишка	1(14,29%)	3(42,86)	3(42,86%)	7(100%)
Подслизистая оболочка	Ректосигмоидный отдел прямой кишки	0(0%)	6(100%)	0(0%)	6(100%)
Подслизистая оболочка	Сигмовидная кишка	0(0%)	3(100%)	0(0%)	3(100%)
Мышечно-серозный слой	Верхнеампулярный отдел прямой кишки	0(0%)	0(0%)	4(100%)	4(100%)
Мышечно-серозный слой	Ректосигмоидный отдел прямой кишки	2(100%)	0(0%)	0(0%)	2(100%)
Мышечно-серозный слой	Сигмовидная кишка	2(100%)	0(0%)	0(0%)	2(100%)
Всего		5 (16,67%)	15(50%)	10(33,3%)	30(100%)

Чувствительность колоноскопии для выявления эндометриоза кишки составила – 76,7%, специфичность – 56,87%, прогностичность положительного результата – 45,76%, прогностичность отрицательного результата – 16,37%.

Таким образом, несмотря на инвазивный характер исследования, во всех случаях была получена информация о степени инвазии эндометриоза и его распространении, повлиявшая на выбор адекватного объема планируемого оперативного вмешательства.

3.3 Хирургическое лечение больных ретроцервикальным эндометриозом

Лапароскопическая диагностика эндометриоза остается одним из самых точных методов по настоящее время. Всем пациенткам проведено оперативное лечение лапароскопическим доступом. При сравнительном анализе подгрупп с ретроцервикальным эндометриозом, локализация эндометриоидных очагов на брюшине малого таза, ретроцервикальной клетчатке отмечено во всех подгруппах 100%

Эндометриоидные очаги малого таза представляли различную вариацию – в виде геморрагических синюшных пузырьков, «звездчатые», «сливные» формирующие единый инфильтрат. Это типичные участки эндометриоза размерами от 0,5см до 2,5см со склерозированной плотной тканью хрящевидной консистенции, переходом и прорастанием на крестцово – маточные связки.

Из всех пациенток ($n = 120$) с ретроцервикальным эндометриозом ретроцервикальный эндометриоз I стадии выявлен у 47/120 (39,2%) пациенток, II стадии у 43/120 (35,8%), III стадии – у 17/120 (14,2%), IV стадии - у 13/120 (10,8%) женщин ($p=0,004$). Ретроцервикальный эндометриоз наиболее тяжелой (III и IV) стадии отмечен у пациенток IB подгруппы, I стадию составляли пациентки IA ($n=30/30$) (100%) и II ($n=17/30$) (14,2%) подгрупп. У всех пациенток IB подгруппы диагностирован ретроцервикальный эндометриоз II, III стадии в сочетании с односторонними или двусторонними

эндометриоидными кистами яичников размерами от 2.0 до 8.0 см. Эндометриоидные кисты были представлены в виде округлого образования с четкими контурами и, в большинстве случаев, плотной капсулой, с густым содержимым темно-коричневого цвета. Чаще всего эндометриоидному процессу подвергался левый яичник в 12/30 (40%) наблюдениях, правый - в 7/30 (23,3%), двустороннее поражение яичников - у 11/30 (36,7%) женщин ($p < 0,001$).

У всех пациенток с РЦЭ и эндометриоидными кистами диагностирован спаечный процесс в малом тазу различной степени выраженности. Спайки были представлены в виде плотных, фиброзированных структур в подъяичниковой ямке с фиксацией яичников к боковым стенкам таза, также в виде фиброзных плотных сращений фиксирующих органы малого таза в виде единого конгломерата. После разделения и выделения из спаек яичников, выполняли резекцию в пределах визуально здоровых тканей. Определив край эндометриомы яичника, выполняли продольный разрез с последующим вылушиванием капсулы кистозного образования без вскрытия полости. В случаях плотного прикрепления капсулы кисты, после рассечения ткани яичника и капсулы, аспирировали содержимое, промывали полость кисты с последующим иссечением капсулы образования, коагулировали сосуды ложа кисты.

Следует отметить, что особенностью эндометриоидных кист яичников являлось наличие характерных спаечных сращений в области подъяичниковой ямки вплоть до крестцово – маточных связок и стенки кишки, что требовало в первую очередь выполнение ответственного этапа операции — рассечение плотных рубцовых спаек без повреждения стенки органов. Очаги ретроцервикального эндометриоза во всех случаях иссекали преимущественно острым путем в пределах визуально здоровых тканей.

Спаечный процесс III-IV степени отмечен у всех пациенток в подгруппе пациенток с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с поражением толстого кишечника. Конгломерат малого таза был представлен грубыми

рубцовыми сращениями между маткой, придатками и петлями толстой кишки за счет разрастания эндометриoidных гетеротопий и соединительнотканых фиброзных тяжей. Эндометриoidный инфильтрат чаще всего был локализован в ректосигмоидном отделе толстой кишки с инфильтрацией ретроцервикальной клетчатки, что наблюдалось у 12/30 (40%) пациенток, у 9/30 (33,3%) пациенток - на уровне верхнеампулярного отдела прямой кишки, преимущественно по передней стенке, в 8/30 (26,7%) наблюдениях, в процесс была вовлечена сигмовидная кишка. В этой подгруппе также были выявлены наиболее редкие локализации эндометриoidных очагов: эндометриоз червеобразного отростка обнаружен у 1/30 (3,3%) и в терминальном отделе подвздошной кишки у 1/30 (3,3%) пациентки.

В зависимости от площади и степени прорастания эндометриоза в стенку кишки у 8/30 (26,7%) пациенток IB подгруппы выполняли иссечение инфильтрата в пределах мышечного слоя по типу «шейвинга» без нарушения целостности кишки. При распространении эндометриoidного инфильтрата на протяжении от ректосигмоидного отдела до границы с нижнеампулярным отделом прямой кишки, выполняли резекцию пораженной эндометриозом части кишки с формированием циркулярного анастомоза в 15/30 (50%) наблюдениях ($p < 0,001$). В случаях низкой локализации эндометриoidного инфильтрата и обтурации просвета кишки, мобилизовали прямую кишку от задней стенки влагалища до границы с неизменной ректовагинальной клетчаткой с последующей резекцией и наложением протективной сигмостомы у 7/30 (23,3%) пациенток ($p < 0,001$). В случае поражения эндометриозом червеобразного отростка, наблюдалось формирование эндометриoidного конгломерата, в который были вовлечены правый придатки и аппендикс с инфильтрацией его стенки и наличием эндометриoidных очагов на верхушке отростка, что явилось показанием для выполнения аппендэктомии. После разделения спаечного процесса окружающего червеобразный отросток, последний идентифицировали по ходу *taeniae libera*, брыжейку отростка коагулировали биполярным электродом и отделяли преимущественно острым

путем, изолируя аппендикулярную артерию с помощью аппарата «Эшелон – 35» выполняли аппендэктомию. Персистирующее кровотечение линии скрепочных швов останавливали биполярным электродом.

Поражение эндометриозом пузырно-маточной складки наблюдалось только у пациенток IV подгруппы – у 18/30 (60%).

Лапароскопическая диагностика ретроцервикального эндометриоза и миомы матки не представляет трудностей визуализации и характеризуется менее разнообразными признаками. Обнаруживали участки ретроцервикального эндометриоза от 1,0см до 3,0см, окруженные склерозированной тканью плотной консистенции в пределах ректовагинальной перегородки. Размеры миоматозных узлов варьировали от 2,0см до 6,0см. У 22/30 (73,3%) пациенток была обнаружена множественная миома матки, в остальных случаях - у 8/30 (26,7%) женщин определялся один миоматозный узел. У 17/30 (56,6%) женщин, миоматозные узлы располагались по задней стенке матки, у 5/30 (16,6%) по передней стенке и 8/30 (26,6%) в области дна матки с интерстициально-субсерозным расположением узлов. С применением монополярного электрода с мощностью режущего тока 50-60Вт рассекали миометрий над миоматозным узлом, для фиксации миоматозного узла применяли эндоскопические пулевые щипцы. После выполнения точечного гемостаза ложа узла, восстанавливали целостность миометрия рассасывающимися нитями в 2-3 ряда. Удаленные препараты извлекали через 10-мм троакар или морцелляцией.

Последним этапом операций во всех случаях была санация брюшной полости стерильным физиологическим раствором для удаления сгустков крови, тканевого детрита .

У всех 120 пациенток эндоскопическое оперативное вмешательство прошло без осложнений. Послеоперационный период протекал гладко, в удовлетворительном состоянии пациентки были выписаны на 5-7 сутки.

Таким образом, подтверждена важность и точность лапароскопической диагностики ретроцервикального эндометриоза.

3.6. Послеоперационное ведение больных ретроцервикальным эндометриозом

Ведение пациенток в послеоперационном периоде основано на общих хирургических принципах и зависит от объема хирургического вмешательства. Медикаментозное обезболивание проводили нестероидными противовоспалительными препаратами. Важным вопросом послеоперационного ведения больных инфилтративной формой эндометриоза является использование антибиотиков. Всем пациентам проводилась антибиотикопрофилактика. При резекции кишки флора последнего как правило обсеменяет операционное поле, поэтому проводили антибиотикотерапию препаратами широкого спектра действия в течение 5-7 дней. Довольное большое значение придавали коррекции гиперкоагуляции в послеоперационном периоде, особенно после длительных и травматичных операций, что компенсировали инфузионной терапией в том числе. Обязательную профилактику тромбоэмболических осложнений у пациенток проводили эластической компрессией нижних конечностей и назначением антикоагулянтов через 12 часов после оперативного вмешательства. Пациенток активировали начиная с первых послеоперационных суток с ежедневным увеличением двигательной активности.

Обязательным компонентом послеоперационного ведения женщин с инфилтративными формами эндометриоза является противорецидивная и супрессивная гормональная терапия. При выписке мы рекомендовали пациенткам динамическое наблюдение, в зависимости от репродуктивных мотиваций, возраста и предпочтений препараты прогестерона, такие как визанна и дюфастон.

3.4 Результаты морфологического исследования ретроцервикального эндометриоза

Всем пациенткам с ретроцервикальным эндометриозом выполнено гистологическое исследование операционного материала.

Макроскопически очаги ретроцервикального эндометриоза были представлены участками уплотнения, размерами от 0,5 до 2,5см, синюшного вида, с очагами кровоизлияний. Микроскопически в фиброзной ткани определялись очаги эндометриоидных гетеротопий, состоящие из железистого и стромального компонентов (рисунок 19). Железистый компонент был представлен железами различной формы и величины, покрытые эндометриальным железистым эпителием, сходным с таковым эндометрием стадии пролиферации, а также правильный митоз. Стромальный компонент состоял из эндометриоидной цитогенной стромы богатой кровеносными сосудами, с участками свежих и старых кровоизлияний. Отмечалось большое количество полнокровных капилляров и единичные нервные ганглии.

Эндометриоидные гетеротопии были представлены различным сочетанием так называемых «активных» и «неактивных» гетеротопий. Для активного эндометриоза характерно преобладание стромы над железистым компонентом. Активные очаги характеризовались выраженной васкуляризацией, цитогенной стромой и железами выстланными эпителием пролиферирующего типа. Неактивные – умеренно выраженной, в основном склерозированной цитогенной стромой, с деформированными железами по типу кистозно-расширенных, выстланных атрофичным или дистрофически измененным эпителием. Ретроцервикальный эндометриоз IA подгруппы был представлен активными формами гетеротопий.

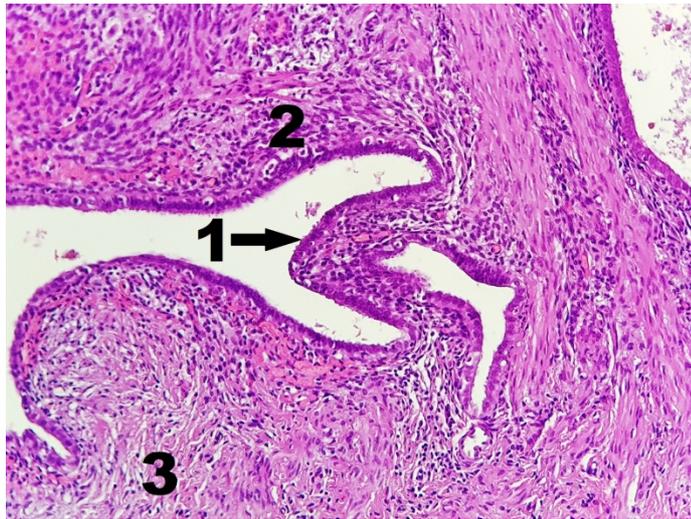


Рисунок 19. Ретроцервикальный эндометриоз. Примечание: 1 – железистый эндометриальный эпителий; 2 – эндометриальная строма; 3 – соединительная ткань, х200 ГЭ.

Основная жалоба пациенток IA подгруппы характеризовалась болями в нижних отделах живота, вероятно, обусловлена регулярным кровоизлиянием в гетеротопиях (согласно менструальному циклу). В зависимости длительности заболевания, увеличивается количество старой, излившейся крови в эндометриоидных очагах.

Наиболее «агрессивные» (пролиферативно активные, богатые стромальным компонентом) очаги, были обнаружены у пациенток IB подгруппы.

Макроскопически очаги ретроцервикального эндометриоза у пациенток данной подгруппы представляли фрагменты ткани размерами от 1,0 до 5,0см, волокнистой структуры, с неровной поверхностью, наличием мелкоточечных кистозных полостей (рисунки 20, 21).

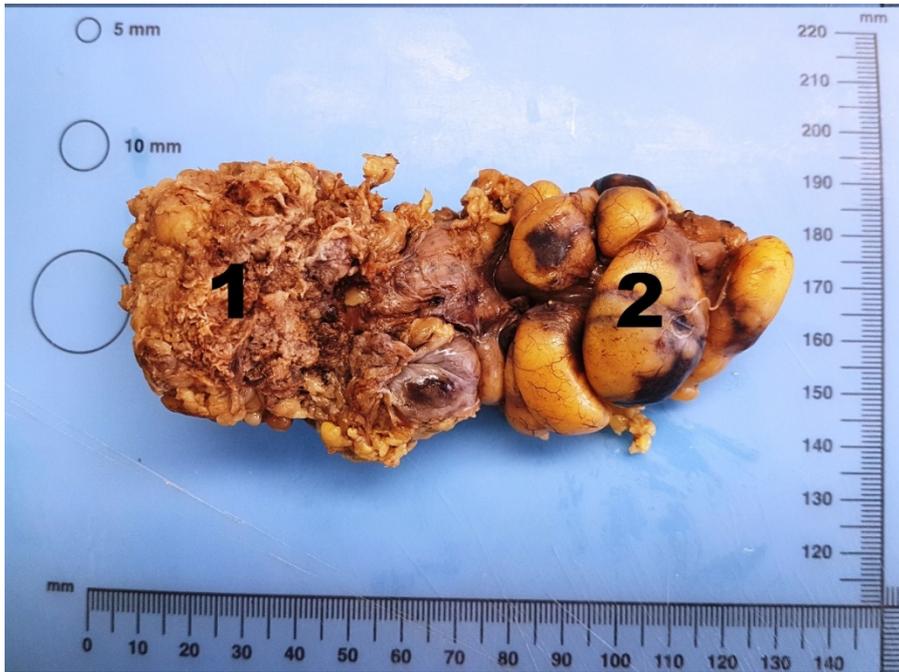


Рисунок 20. Поперечные срезы толстой кишки с очагами инфильтративного эндометриоза в мышечном и серозном слоях стенки.

Примечание: 1 – фибрированная брыжейка с очагами эндометриоза; 2 – неизменённая брыжейка.

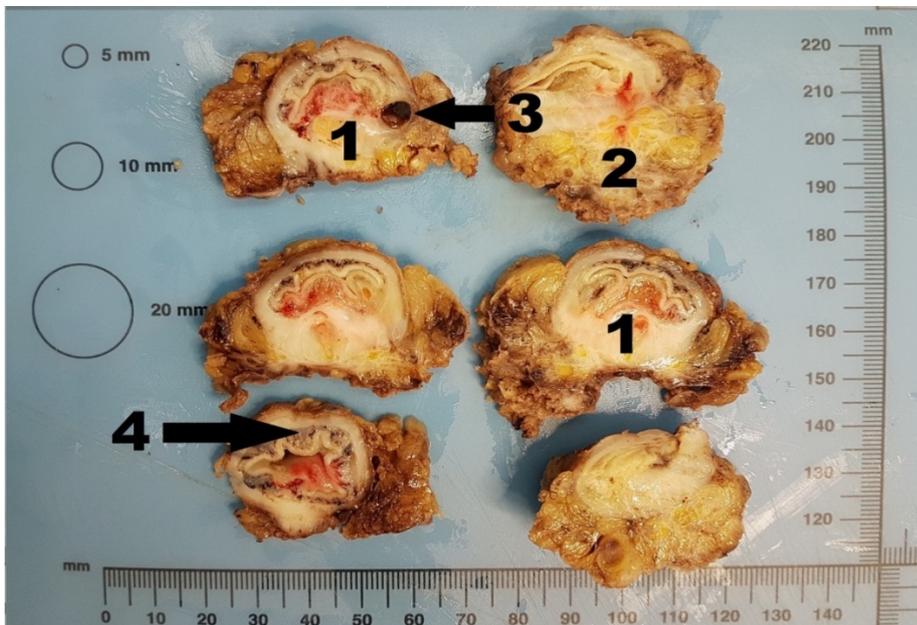


Рисунок 21. Поперечные срезы толстой кишки с очагами инфильтративного эндометриоза.

Примечание: 1 – утолщенная мышечная оболочка; 2 – очаги эндометриоза в брыжейке; 3 – эндометриоидная киста в стенке кишки; 4 – неизменённая стенка кишки.

Удаленный инфильтрат кишки был представлен в виде участков кишки с неравномерно утолщенной стенкой за счет гипертрофии мышечных волокон и деформацией и/или сужением просвета кишки различной степени выраженности. В области очага на слизистой оболочке кишки отмечали сглаживание внутренних складок.

Выявлялось нарушение гистологической архитектоники стенки кишки за счет формирования эндометриoidных гетеротопий с окружающих их гипертрофированным мышечным валиком, что приводит к нарушению синхронной работы гладкомышечного компонента стенки кишки и, как следствие, нарушению функциональной моторики кишки, что клинически может проявляться диспареунией и функциональными расстройствами желудочно-кишечного тракта. Кроме того, известно, что распространение эндометриoidных гетеротопий происходит по ходу нервных ганглиев и, приводит к нарушению ноцицепции в пораженном участке.

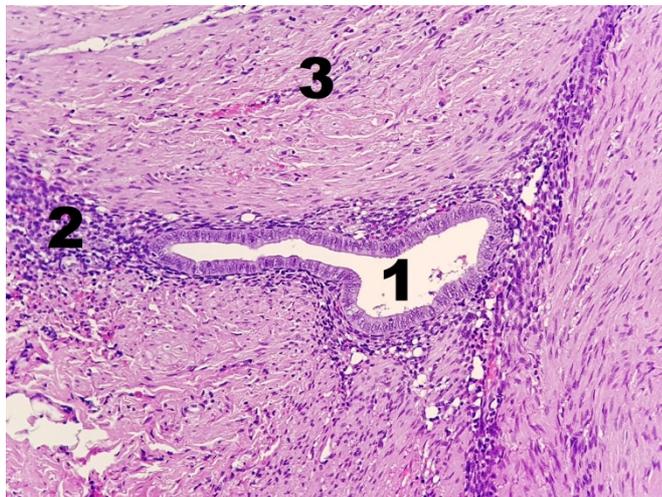


Рисунок 22. Эндометриоз стенки кишки

Примечание: Фрагмент эндометриoidного очага верхнеампулярного отдела толстой кишки, 1 – просвет эндометриальной железы; 2 – эндометриальная строма; 3 – мышечный слой стенки кишки, x200 ГЭ.

Очаги эндометриоза были представлены кистозно-измененными железами эндометриoidного типа с окружающей цитогенной стромой в фибрно – жировой ткани с гипертрофией окружающей гладкомышечной ткани (рисунок 22). Эндометриoidные очаги характеризовались более

выраженной пролиферативной активностью по сравнению с участками эндометриоза ретроцервикальной клетчатки других подгрупп исследования.

У пациенток 1В подгруппы, морфологическим субстратом симптомокомплекса служат кистозные образования яичников и эндометриоидные гетеротопии ткани яичников. Эндометриоидные кисты яичников представляли собой кистозные полости, размерами от 1,0 до 5,0см, с утолщенными фиброзированными стенками, гладкой наружной поверхностью, складчатой внутренней стенкой и густым содержимым коричневатого цвета. Стенки эндометриоидных кист содержали выстилку, состоящую из эпителиального компонента эндометриоидного типа (поверхностный эпителий и выстилка желез) и стромального компонента (также эндометриоидного типа). Очаги ретроцервикального эндометриоза содержат более выраженный стромальный компонент, в то время как в очагах эндометриоза яичников преобладал железистый компонент, с минимально составляющим стромальным компонентом (рисунок 23).

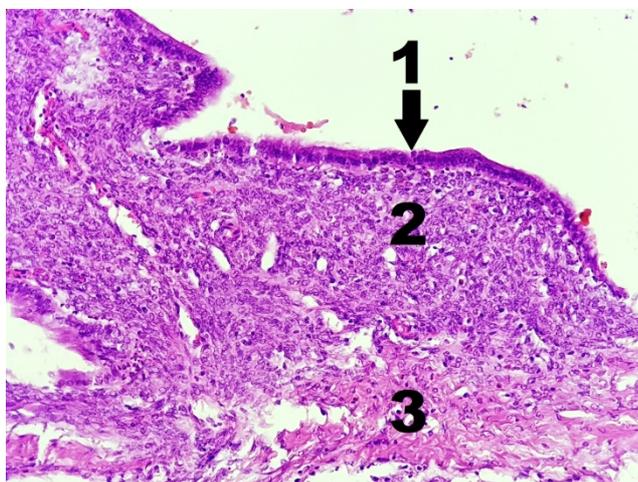


Рисунок 23. Фрагмент эндометриоидной кисты яичника с выстилающим эндометриальным эпителием (1), эндометриальной стромой (2), стромой яичника (3), x200 ГЭ.

Важной компонентой морфологических изменений в данном случае является не только природа кисты (циклические изменения выстилающего слоя приводят к определенной периодичности и выраженности болевого синдрома),

но и его объем, и соотношение с прилежащими тканями. При образовании спаек и воспалительных изменений в стенке капсулы изменяется характер и выраженность болевого синдрома, периодичность его возникновения.

У пациенток II подгруппы, морфологическим субстратом клинических проявлений служит деформация полости матки межмышечными, субсерозными и субмукозными миоматозными узлами. Миоматозные узлы характеризовались фиброзной и мышечной тканью белесоватого цвета, плотной структуры, волокнистого строения, размерами от 1,0 до 8,0см. Наличие миоматозных узлов разной локализации в матке приводит к неравномерным структурным перестройкам ткани и неполному отторжению эндометрия с нарушением процессов ангиогенеза во время менструации. Этим объясняется длительные и обильные менструальные кровотечения, анте- и постпонирующие длительные кровянистые выделения из половых путей.

Микроскопически лейомиомы характеризовались наличием разнонаправленных гладкомышечных волокон, местами с гиалинозом (рисунок 24).

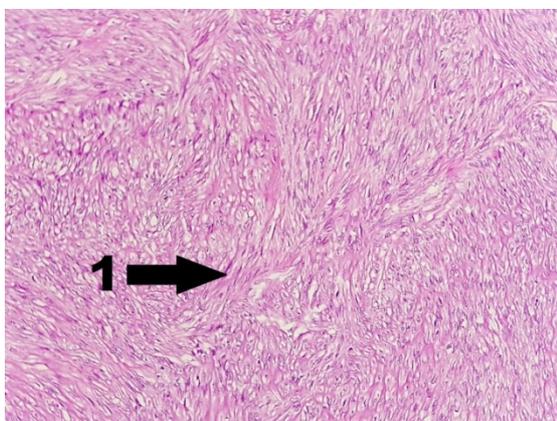


Рисунок 24. Миома матки.

Примечание: Фрагмент миоматозного узла матки. *Примечание:* 1 – пучки лейомиоцитов, х200 ГЭ.

Очаги ретроцервикального эндометриоза данной подгруппы характеризовались фиброзно-мышечной тканью с жировым компонентом. Железистый компонент может быть представлен уплощенным эпителием и/или кистозно расширенными железами с щелевидным или округлым просветом,

пролиферирующим, секреторным (редко) или индифферентным эпителием. Стромальный компонент гетеротопий местами имел вид «активного», богатого воспалительными клетками и сосудами синусоидной формы, а местами - склерозированными клетками. Обнаружено, что очаги имели цитогенную строму и участки фиброзно - мышечной ткани, которые были инфильтрированы воспалительными клетками - лимфоцитами, макрофагами, эозинофилами, в меньшей степени – нейтрофильными лейкоцитами, что характерно для хронического воспаления.

В II подгруппе, все эндометриодные очаги имели низкую пролиферативную активность, без интраваскулярного роста. В очагах эндометриоза IB подгруппы обнаруживалась инвазия эндометриодных гетеротопий в лимфатические и кровеносные сосуды. Соединительнотканые разрастания обнаруживались вокруг эндометриодных гетеротопий с лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрацией, скоплением гемосидерина, очагами ангиоматоза, деформированными и гипертрофированными нервными волокнами. Вокруг гетеротопий обнаруживалось большое количество нейтрофилов, эозинофилов, тучных клеток и лимфомакрофагальная инфильтрация. В прилежащей мышечной ткани выявлялась выраженная гипертрофия гладкомышечных клеток с перифокальным воспалением. Отмечалось разрастание нервных окончаний с деструкцией волокон в виде беспорядочно расположенных конгломератов.

Во всех подгруппах исследования, отмечалась деформация окружающих тканей с очагами склероза, кровоизлияниями различной давности, накоплением гемосидерина и воспалительной реакцией. Гипертрофия мышечных волокон, локализованная вокруг эндометриодных очагов имитировала архитектурные особенности миометрия.

В соскобе из полости матки стадии пролиферации, фрагменты эндометрия характеризовались наличием тубулярных желез, выстланных одно-двурядным эпителием пролиферативного типа, с наличием митозов и апоптотических телец, цитогенной стромой с рассеянной лимфоидной

инфильтрацией. В соскобе из полости матки секреторной фазы менструального цикла, у пациенток с РЦЭ, эндометрий был представлен слизистой с извитыми железами и широким просветом, эпителий желез многорядным, с признаками секреции в просвет желез, стромы с отеком, утолщением сосудов с формированием клубков спиральных артерий.

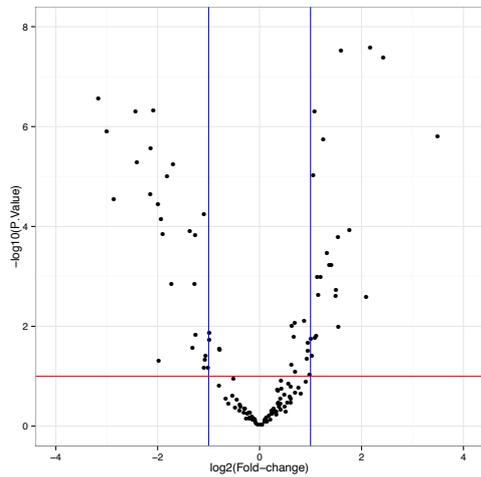
Таким образом, клинические проявления ретроцервикального эндометриоза, морфологически могут характеризоваться пролиферацией стромального и железистого компонентов, оксидативным стрессом тканей, ангиогенезом, в том числе неоангиогенезом, деструкцией и/или разрастанием нервных ганглиев. Инфильтративный рост эндометриоза может наблюдаться по межмышечным соединительно-тканым прослойкам, глиальным оболочкам ганглиев, по ходу сосудов системы микроциркуляции и лимфатических узлов. Периваскулярный фиброз приводит к застою в капиллярной сети и лимфостазу, что усиливает оксидативный стресс и тканевую воспалительную реакцию.

3.5 Исследование дифференциальной экспрессии микроРНК

При проведении секвенирования исследовалось 3 группы образцов – нормальный эндометрий от пациентов без эндометриоза, а также эутопический и эктопический (очаговый) эндометрий от пациентов с ретроцервикальным эндометриозом в пролиферативную фазу. После секвенирования были получены прочтения нуклеотидных последовательностей, которые были картированы на базу данных miRbase v21 для идентификации зрелых микроРНК. Всего для эутопического эндометрия было обнаружено 305, для эктопического 323, а для нормального 330 микроРНК с медианным числом ридов больше 10. Дифференциальная экспрессия была рассчитана с помощью сервиса DESeq2. Для дальнейшего анализа были отобраны микроРНК, имеющие в среднем не менее 100 ридов, при коэффициенте ложных обнаружений (FDR P-val) меньше 0.1 и кратности изменений ≥ 2 .

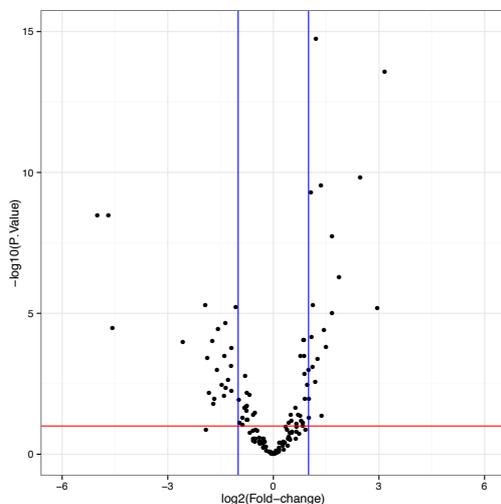
Сравнительный анализ экспрессии микроРНК в эутопическом относительно нормальной эндометрии не выявил выраженных отличий: 4 микроРНК с повышенной и одна с пониженной экспрессией. В паре сравнения эктопический – эутопический было обнаружено 34 микроРНК с повышенной экспрессией и 40 микроРНК с пониженной экспрессией в эктопическом эндометрии. При сравнении непарных образцов эктопического и нормальной эндометрии было выявлено 33 микроРНК с повышенной и 30 с пониженной экспрессией в эктопическом эндометрии. Данные приведены на рисунке (25 а,б,в).

А



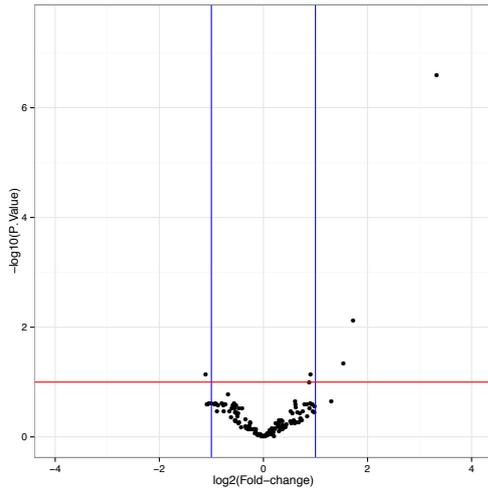
микроРНК	log2(FC)	P-value	микроРНК	log2(FC)	P-value
hsa-miR-133a-3p	5,1	1,6E-17	hsa-miR-200b-3p	-4,6	6,5E-15
hsa-miR-490-3p	4,6	6,8E-23	hsa-miR-182-5p	-4,8	4,1E-24
hsa-miR-145-5p	3,9	1,2E-18	hsa-miR-486-5p	-5,2	6,8E-23
hsa-miR-143-5p	3,8	2,1E-45	hsa-miR-200a-3p	-5,3	1,5E-20
hsa-miR-139-5p	3,6	6,4E-28	hsa-miR-429	-5,5	1,1E-21
hsa-miR-1-3p	3,5	1,6E-06	hsa-miR-203a-3p	-5,8	6,0E-18
hsa-miR-143-3p	3,5	1,1E-21	hsa-miR-375	-5,8	6,1E-16
hsa-miR-145-3p	3,2	1,7E-30	hsa-miR-144-5p	-6,1	5,1E-15
hsa-miR-28-3p	3,2	6,2E-30	hsa-miR-451a	-6,3	3,5E-18
hsa-miR-378a-3p	2,9	4,6E-15	hsa-miR-144-3p	-6,7	2,5E-16

Б



микроРНК	log2(FC)	P-value	микроРНК	log2(FC)	P-value
hsa-miR-490-3p	8,8	1,3E-35	hsa-miR-200b-3p	-3,4	2,1E-26
hsa-miR-1-3p	8,6	1,6E-99	hsa-miR-429	-3,4	2,0E-25
hsa-miR-133a-3p	8,5	3,9E-27	hsa-miR-183-5p	-3,5	5,5E-17
hsa-miR-145-5p	4,7	8,4E-64	hsa-miR-200c-3p	-3,6	1,4E-29
hsa-miR-143-3p	4,6	8,9E-96	hsa-miR-182-5p	-3,9	8,7E-17
hsa-miR-143-5p	4,4	4,5E-94	hsa-miR-203a-3p	-4,4	2,9E-16
hsa-miR-145-3p	3,6	7,1E-39	hsa-miR-144-3p	-4,6	3,3E-05
hsa-miR-378a-5p	3,5	1,3E-28	hsa-miR-486-5p	-4,7	3,4E-09
hsa-miR-139-5p	3,4	6,4E-32	hsa-miR-375	-4,9	7,6E-19
hsa-miR-378c	3,2	3,0E-25	hsa-miR-451a	-5,0	3,2E-09

В



микроРНК	log2(FC)	P-value	микроРНК	log2(FC)	P-value
hsa-miR-200a-3p	1,5	4,7E-02	hsa-miR-379-5p	-1,1	7,4E-02
hsa-miR-429	1,7	7,6E-03			
hsa-miR-1-3p	3,3	2,6E-07			
hsa-miR-143-3p	0,9	9,9E-02			

Рисунок 25. Сравнение списков дифференциально экспрессированных микроРНК (14 а,б,в).

При пересечении списков дифференциально экспрессированных микроРНК, полученных при сравнении парных и непарных образцов, было установлено 50 общих микроРНК для обеих групп, 24 уникальных для пары сравнения эктопический – эутопический и 13 для пары сравнения эктопический – нормальный. Данные в виде диаграммы Венна и список микроРНК представлены на рисунке 26.

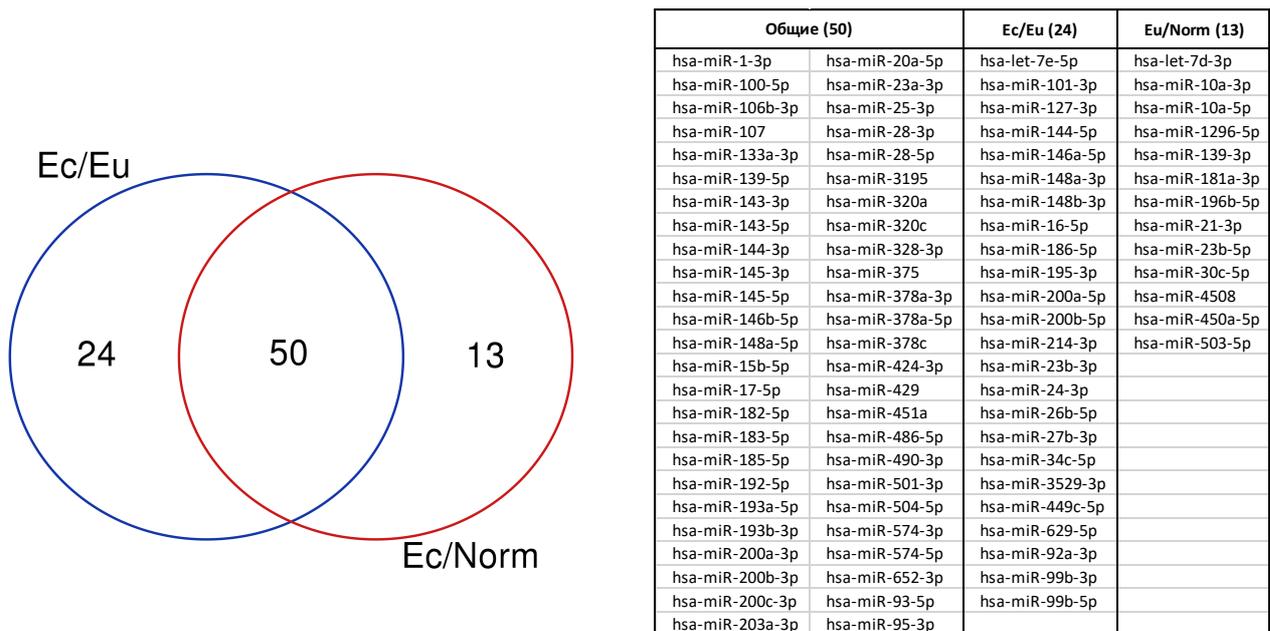


Рисунок 26. Сравнение списков дифференциально экспрессированных микроРНК.

В данном исследовании также проводился сравнительный анализ состава микроРНК в плазме крови больных эндометриозом. По данным секвенирования было идентифицировано 359 прочтений с различной представленностью соответствующих микроРНК. Из них было выявлено 68 микроРНК с количеством прочтений более пятидесяти, из которых у 20 микроРНК количество прочтений было более пятисот. Количество прочтений является параметром относительной представленности микроРНК в исследуемом образце. Низкие значения количества прочтений существенно снижают вероятность детекции и использования в сравнительном анализе кандидатных микроРНК. Наиболее представленные в плазме крови микроРНК, идентифицированные в результате исследования, указаны в таблице 19.

Таблица 19 - **МикроРНК наиболее представленные в плазме крови.**

микроРНК	прочтения	log ₂ (FC)	FDR P-val
hsa-miR-122-5p	32747	-0,66	0,60
hsa-miR-486-5p	18330	0,53	0,62
hsa-miR-423-5p	7667	0,72	0,37
hsa-miR-3184-3p	7611	0,72	0,37
hsa-miR-92a-3p	6333	-0,26	0,73
hsa-let-7b-5p	5792	0,05	0,98
hsa-miR-451a	3772	-0,88	0,32
hsa-miR-320a	2376	0,52	0,62
hsa-miR-22-3p	1617	0,32	0,62
hsa-miR-148a-3p	1528	-0,60	0,28
hsa-let-7i-5p	1356	-0,63	0,34
hsa-miR-143-3p	844	-0,67	0,64
hsa-let-7a-5p	712	0,08	0,96
hsa-miR-10b-5p	693	-0,51	0,62
hsa-miR-99a-5p	685	-0,22	0,84
hsa-let-7g-5p	600	-0,47	0,62
hsa-miR-10a-5p	520	-0,39	0,71
hsa-miR-423-3p	505	0,19	0,86

Таким образом, полученные данные статистической обработки с использованием поправки на множественные сравнения свидетельствуют об отсутствии достоверных изменений состава микроРНК в плазме крови при эндометриозе.

3.8.1. Валидация данных методом ПЦР

Для валидации данных секвенирования был применен альтернативный анализ экспрессии микроРНК с использованием метода ПЦР в реальном времени. Среди дифференциально экспрессированных микроРНК было отобрано два представителя с меняющейся экспрессией в группах сравнения (miR-143-3p, miR-28-3p), а также два представителя, для которых различий обнаружено не было (miR-181a-5p, miR-191-5p). Был проведен анализ 22 образцов тканей эктопического (ЭК), эутопического (ЭУ) и нормального (ЭН) эндометрия. Для miR-181a-5p и miR-191-5p не было выявлено достоверных отличий в сравниваемых группах, тогда как для miR-143-3p, miR-28-3p наблюдалось повышение экспрессии в эктопическом эндометрии, что соответствовало результатам секвенирования (Рисунок 27).

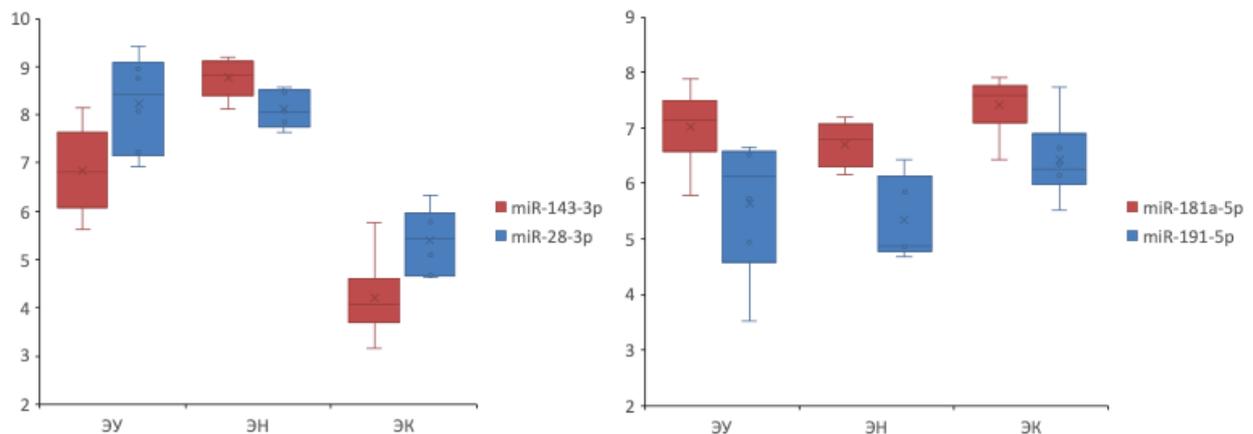


Рисунок 27. Валидация данных секвенирования методом ПЦР в реальном времени. Группы сравнения: образцы тканей эктопического (ЭК), эутопического (ЭУ) и нормального (ЭН) эндометрия.

Для miR-143-3p также обращало на себя внимание заметное повышение экспрессии в тканях эутопического эндометрия по сравнению с нормальным. Таким образом, данное обстоятельство позволяет рассматривать данную микроРНК в качестве потенциального маркера патологического эндометрия при эндометриозе.

3.6 Оценка специфичности экспрессии miR-143-3p и miR-200a-3p в эутопическом эндометрии при ретроцервикальном эндометриозе

По результатам секвенирования был проведен анализ дифференциально экспрессированных микроРНК в эутопическом эндометрии относительно нормального эндометрия. На основании данных о количестве прочтений и кратности изменений были отобраны две микроРНК (miR-143-3p, miR-200a-3p), уровень экспрессии которых повышался в тканях эутопического эндометрия больных эндометриозом по сравнению с тканями нормального эндометрия. Для подтверждения данных секвенирования также использовали метод ПЦР в реальном времени. Кроме этого, для оценки специфичности экспрессии данных микроРНК у больных эндометриозом в качестве групп сравнения в исследование вошли образцы тканей пациентов с другими пролиферативными процессами: полипом эндометрия и миомой. В результате исследования было установлено, что экспрессия miR-143-3p повышена в тканях эутопического эндометрия больных эндометриозом по сравнению с другими исследованными группами, которые достоверно не отличались между собой (рисунок 28). Для miR-200a-3p наблюдалось снижение экспрессии в нормальном эндометрии по сравнению с группами образцов тканей пациентов с выявленными эндометриозом, полипом эндометрия и миомой матки.

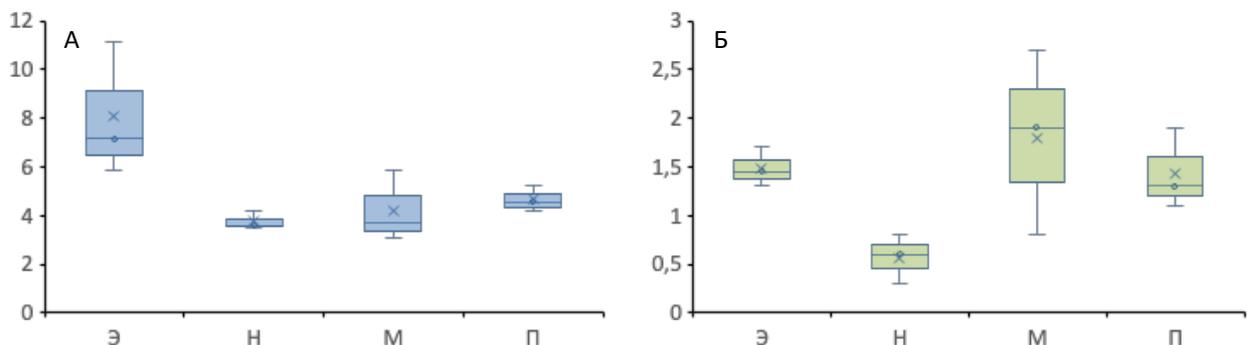


Рисунок 28. Анализ экспрессии miR-143-3p и miR-200a-3p в нормальном эндометрии (Н) и эутопическом эндометрии у больных эндометриозом (Э), полипом эндометрия (П), миомой матки (М).

Таким образом, можно заключить, что повышение экспрессии miR-143-3p в эутопическом эндометрии может свидетельствовать о наличии эндометриоза, тогда как повышение экспрессии miR-200a-3p может являться маркером пролиферативных процессов в стенке матки.

3.8.3. Анализ представленности функциональных групп генов

Для полученных в ходе исследования списков дифференциально экспрессированных микроРНК был произведен поиск потенциальных генов-мишеней в базе данных MirTarBase v. 7.0. По результатам поиска отбирались только взаимодействия микроРНК-мРНК с высокой степенью валидации (qPCR, WesternBlot, reporter assay kit). Полученные таким образом наборы генов-мишеней были использованы для анализа представленности функциональных групп генов (gene set enrichment analysis) по базе данных WikiPathways. На основании статистических параметров значимости и достоверности выбора наборов генов-мишеней для того или иного процесса (XD, q-value) и их представленности (O/S, O – количество генов в наборе, S – общее количество генов в пути) для каждой группы сравнения были отобраны пути, из которых были выделены списки наиболее представленных хотя бы в двух группах сравнения. Отобранные пути представлены в таблице 20. В эти пути включен в общей сложности 841 ген, из которых 345 являются потенциальными мишенями для микроРНК, дифференциально экспрессированных между локализациями.

Среди клеточных процессов и сигнальных каскадов особенного внимания заслуживают пути, активируемые эстрогенами, пролактином, тиреотропином, серотонином, факторами роста и морфогенными регуляторами. Также, была выявлена группа путей, контролируемых интерлейкинами (IL-1,-4,-5,-7,-9), которые могут участвовать в регуляции воспалительных процессов при формировании очагов эндометриоза.

Таблица 20 - Списки наиболее представленных сигнальных путей генов-мишеней микроРНК для групп сравнения разных локализаций

Pathway or Process	Ec/Eu			Ec/Norm			Eu/Norm		
	XD	q-value	O/S	XD	q-value	O/S	XD	q-value	O/S
Сигнальные пути									
Alpha 6 Beta 4 signaling pathway	1,26	1,0E-05	18/31	1,28	1,0E-05	19/31	0,48	5,4E-03	6/31
BMP signalling and regulation	1,85	1,4E-03	8/12	2,25	3,0E-03	8/12			
EPO Receptor Signaling	1,73	<1,0E-05	18/26	0,99	1,0E-05	17/26			
Estrogen signaling pathway	1,42	<1,0E-05	14/19	1,31	1,0E-05	14/19	0,76	6,8E-04	6/19
Keap1-Nrf2 Pathway	1,00	1,5E-02	7/13	0,88	2,6E-02	7/13			
Leptin signaling pathway	1,28	<1,0E-05	39/61	1,23	<1,0E-05	41/61			
Osteopontin Signaling	1,85	6,0E-05	9/11	2,62	1,0E-05	10/11			
Prolactin Signaling Pathway	1,49	<1,0E-05	49/75	1,03	<1,0E-05	46/75			
Serotonin Rec. 4/6/7 and NR3C Signaling	1,00	5,9E-03	9/17	0,97	4,0E-02	8/17			
Signaling of Hepatocyte GF Rec.	0,88	<1,0E-05	22/33	0,89	<1,0E-05	22/33	0,77	4,6E-04	8/33
TGF Beta Signaling Pathway	1,29	<1,0E-05	31/52	1,29	<1,0E-05	34/52	0,69	4,2E-03	5/19
TP53 network	1,82	<1,0E-05	14/19	1,32	8,0E-05	13/19			
TSH signaling pathway	1,24	<1,0E-05	39/65	0,93	<1,0E-05	39/65			
TWEAK Signaling Pathway	1,02	<1,0E-05	24/39	1,04	<1,0E-05	23/39			
Wnt Signaling Pathway	1,32	<1,0E-05	27/52	0,88	4,0E-05	26/52			
Иммунные пути									
IL-1 signaling pathway	0,83	<1,0E-05	28/50	1,46	0,0E+00	31/50			
IL-4 signaling pathway	1,49	1,0E-06	32/48	1,00	1,0E-06	29/48			
IL-5 signaling pathway	1,07	<1,0E-05	26/39	0,95	<1,0E-05	27/39	0,38	1,2E-03	8/39
IL-7 signaling pathway	0,74	2,3E-04	14/25	0,74	1,7E-04	15/25			
IL-9 signaling pathway	0,91	6,7E-04	10/16	1,11	2,7E-04	11/16			
Клеточные процессы									
Angiogenesis	2,49	1,0E-06	17/23	1,09	2,4E-04	14/23	0,56	1,8E-03	6/23
Angiogenesis overview	1,05	5,0E-07	32/64	1,00	1,0E-05	31/64			
Cell Differentiation - meta	1,73	1,0E-05	12/16	1,68	2,7E-04	11/16	0,89	2,2E-03	5/16
Endochondral Ossification	0,90	1,0E-05	29/61	0,84	0,0E+00	32/61	0,37	8,0E-05	12/61
Type II diabetes mellitus	2,20	3,5E-03	9/16	2,09	7,3E-03	9/16			
Повреждение ДНК									
DNA damage response (only ATM dependent)	1,94	0,0E+00	52/76	1,53	<1,0E-05	52/76	0,39	1,0E-05	15/76
miRNAs involved in DDR	4,00	<1,0E-05	13/15	3,44	<1,0E-05	14/15	0,97	1,8E-03	5/15
Раковые пути									
Integrated Breast Cancer Pathway	1,01	2,0E-06	72/136	1,29	1,0E-06	79/136			
Integrated Cancer pathway	1,56	<1,0E-05	25/35	2,39	<1,0E-05	29/35	0,47	5,8E-04	8/35
Миоцит ассоциированные									
MicroRNAs in cardiomyocyte hypertrophy	1,30	3,0E-07	50/83	0,79	5,0E-05	44/83			
miRs in Muscle Cell Differentiation	0,73	1,1E-02	12/28	0,96	8,8E-03	13/28			
Physiological/Pathological Heart Hypertrophy	1,37	1,0E-05	16/25	0,98	1,7E-04	15/25	0,76	4,6E-04	7/25
SRF/miRs in Smooth Muscle Different./Prolifer.	2,15	2,3E-04	8/10	2,05	4,7E-04	8/10	1,24	2,8E-03	4/10
Другие									
Ovarian Infertility Genes	1,07	5,1E-03	13/29	0,96	1,3E-02	13/29			
SREBF/miR33 in cholesterol/lipid homeostasis	1,33	3,5E-03	9/16	2,03	2,7E-04	11/16			

Также были установлены внутриклеточные процессы, участвующие в регуляции репарации ДНК при ее повреждении. Обращает на себя внимание обогащение по регуляторным путям, реализующимся при участии микроРНК (miRNA involved in DDR). Активация указанных путей, а также сигнализации, опосредованной интерлейкинами, EPO, NRF2 и TP53 свидетельствует о вкладе

воспалительного процесса и окислительного стресса в развитие генетической нестабильности в клетках эктопического эндометрия.

Таким образом, повреждение ДНК, в свою очередь, может быть фактором, индуцирующим процессы апоптоза, аутофагии и клеточного старения, которые также были выявлены в результате обогащения списков генов-мишеней дифференциально экспрессированных микроРНК.

3.7 Транскриптомный анализ экспрессии генов в тканях эндометрия

Для исследования транскриптома было отобрано 12 образцов эндометрия в пролиферативную фазу цикла, из которых 4 образца взяты от женщин, готовящихся к процедуре ЭКО и являются нормальным контролем; 4 образцов взяты из эктопических очагов ретроцервикального эндометриоза а, так же парный образец эндометрия от того же пациента.

Проведенный анализ показал наличие существенных различий в экспрессии мРНК между эктопическим и эндометриозом. Также было выявлено отличие эндометрия у пациентов с эндометриозом от контрольной группы, независимо от локализации – нормальной или эктопической. Этот результат хорошо иллюстрирует анализ методом главных компонент (рисунок 29) - можно видеть выраженную кластеризацию образцов в зависимости от диагноза и локализации эндометрия.

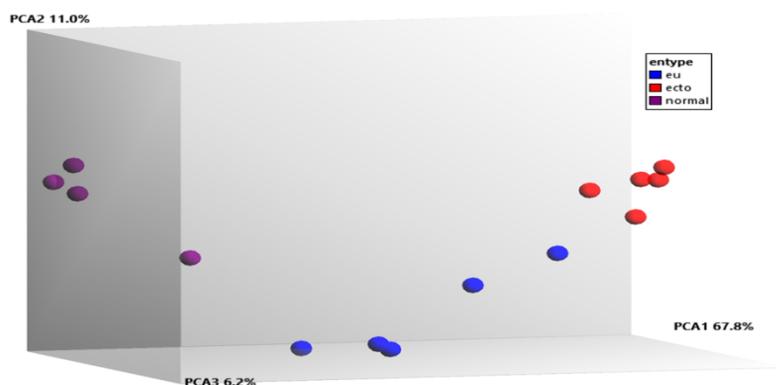


Рисунок 29. Результаты анализа экспрессии мРНК методом главных компонент (Eu - эндометрий, Ecto - эктопический эндометрий, Normal – нормальный эндометрий).

Также был проведен анализ количества дифференциально экспрессированных генов (рисунок 30).

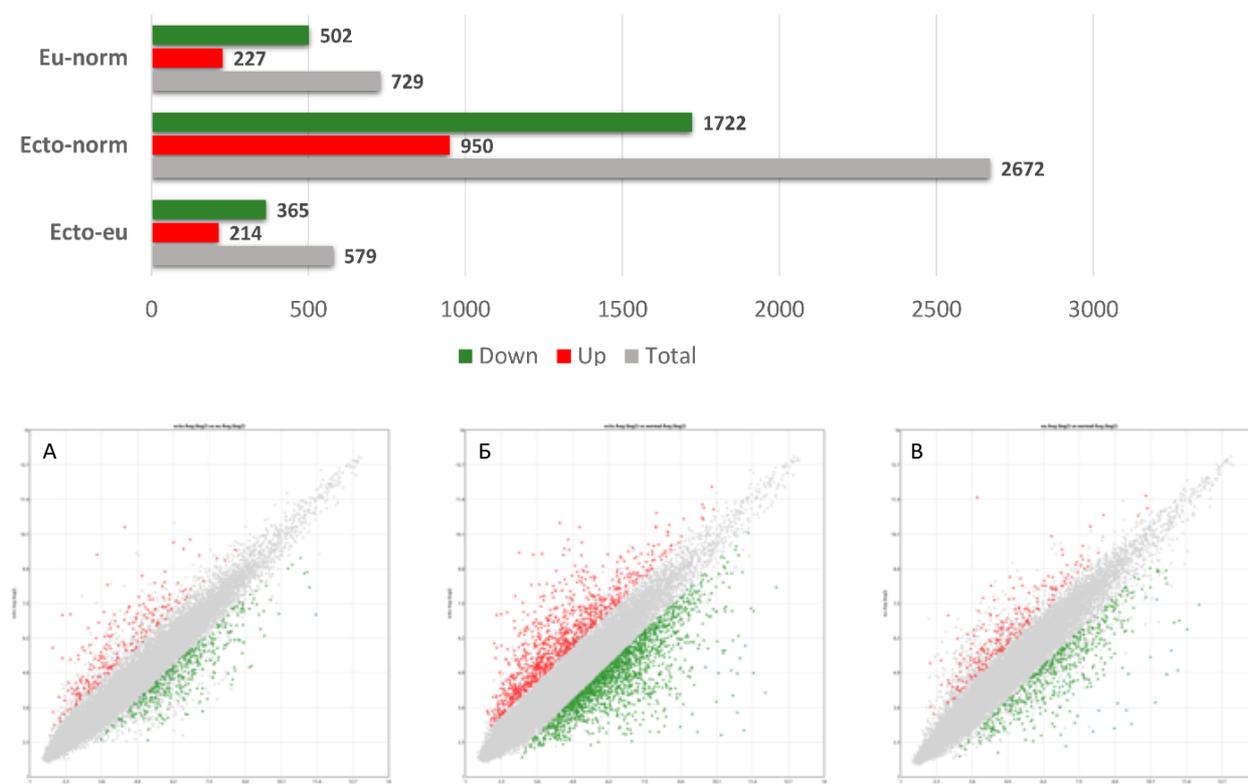


Рисунок 30. Результаты анализа дифференциальной экспрессии генов в эутопическом (Eu) и эктопическом (Ecto) эндометрии при наличии очага эндометриоза, а также в норме без эндометриоза (norm). Представлена визуализация распределения генов по кратности их изменений и статистической достоверности (volcano plot) в парах сравнения: А Ecto-eu, Б Ecto-norm, В Eu-norm. Приведено распределение генов с повышенной и пониженной экспрессией, отличающейся в 2 и более раза и достоверностью на уровне FDR $p < 0,001$.

Для этого отбирались только те гены, которые имели различия в уровнях экспрессии в 2 и более раза и имели статистическую достоверность $p < 0,05$ и коэффициент ложных обнаружений (FDR) $< 0,1$. На графиках распределения различий можно увидеть, что для большого количества генов характерны значительные изменения в экспрессии с высокой достоверностью. Наибольшее количество дифференциально экспрессированных генов (2672) наблюдалось

при сравнении непарных образцов эктопического эндометрия относительно нормального, среди которых было выявлено 950 гена с повышенной экспрессией и 1772 генов с пониженной экспрессией. Для непарных образцов эутопического эндометрия относительно нормального было показано 729 генов: 227 с пониженной и 502 с повышенной экспрессией. При сравнении парных образцов в группе эктопический/эутопический эндометрий было обнаружено 579 генов: 365 с пониженной и 214 с повышенной экспрессией.

Полученные данные демонстрируют выраженные отличия, как в эутопическом, так и в эктопическом эндометрии больных эндометриозом по сравнению с нормальным эндометрием, что свидетельствует о существенных сдвигах баланса молекулярного состава клеток эндометрия при данной патологии.

Выявленные в результате анализа дифференциально экспрессированные гены в эутопическом эндометрии могут быть в перспективе использованы в качестве маркеров эндометриоза. В таблице 21 представлены списки генов (первые пятнадцать) с наиболее выраженными изменениями экспрессии в эутопическом эндометрии.

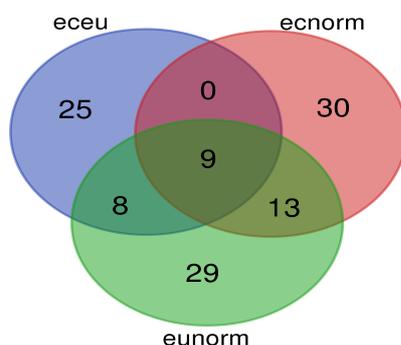
Полученные списки генов были использованы для анализа представленности функциональных групп генов (gene set enrichment analysis) по базе данных WikiPathways.

В результате обогащения списков дифференциально экспрессированных генов были получены соответствующие списки путей и процессов. Полные списки приведены в приложении. Из данных списков были удалены пути, количество генов в которых было менее трех. Наиболее представленной по количеству путей, полученных в результате обогащения, явилась пара EC-NORM (174 пути), что представляется закономерным, поскольку в ней было представлено максимальное количество дифференциально экспрессированных генов (2672). В парах EC-EU и EU-NORM было выявлено 64 и 91 пути, соответственно.

Таблица 21 - Гены с наибольшими изменениями экспрессии в эутопическом эндометрии у больных эндометриозом

Повышенная экспрессия EU-NORM			
Название гена	Симмвол	Кратность	FDR P-val
matrix metalloproteinase 7	MMP7	207,48	0,0107
solute carrier family 47 (multidrug and toxin extrusion), member 1	SLC47A1	20,22	0,0024
periostin, osteoblast specific factor	POSTN	14,91	0,0267
peptidase domain containing associated with muscle regeneration 1	PAMR1	13,16	0,0015
carboxypeptidase M	CPM	11,59	0,0055
secreted frizzled-related protein 1	SFRP1	7,91	0,0309
sema domain, short basic domain, secreted, (semaphorin) 3E	SEMA3E	7,61	0,0095
phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1	PMAIP1	7,27	0,0259
basic helix-loop-helix family, member e41	BHLHE41	7,18	0,0024
collagen, type XII, alpha 1	COL12A1	6,77	0,002
laminin, gamma 2	LAMC2	6,58	0,004
four jointed box 1	FJX1	6,31	0,0078
GLI pathogenesis-related 1	GLIPR1	6,3	0,034
contactin 1	CNTN1	6,22	0,0037
complement factor H	CFH	6,16	0,0092
Пониженная экспрессия EU-NORM			
Название гена	Симмвол	Кратность	FDR P-val
metallothionein 1F	MT1F	-19,58	0,0213
uncharacterized LOC101927987	LOC101927	-19,73	0,0015
serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 9	SERPINB9	-21,44	0,0441
homogentisate 1,2-dioxygenase	HGD	-24,44	0,001
dual oxidase 1	DUOX1	-26,43	0,002
sulfotransferase family (1E1D) member 1; pseudogene	SULT1E1	-29,05	9,86E-05
ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3	ENPP3	-29,85	0,0309
cysteine-rich secretory protein 3	CRISP3	-34,65	0,0374
transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 6	TRPM6	-34,98	0,0042
metallothionein 1H	MT1H	-39,19	0,0219
hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 2	HSD17B2	-52,01	0,0053
uroplakin 1B	UPK1B	-57,62	0,0018
cytochrome P450, family 26, subfamily A, polypeptide 1	CYP26A1	-62,16	0,0017
xanthine dehydrogenase	XDH	-85,68	0,0019
metallothionein 1G	MT1G	-88,81	0,0042

Далее для каждого списка была вычислена медиана значений коэффициентов значимости (Significance), представленных в каждом пути списков генов. Из списков путей были отобраны те, значения коэффициентов значимости которых были выше медианы. Пересечение полученных списков путей, позволило выявить девять общих путей, наиболее значимых в каждой паре сравнения (рисунок 31).



Pathway	EC-EU					EC-NORM					EU-NORM				
	Total	Up	Down	Signif.	p-value	Total	Up	Down	Signif.	p-value	Total	Up	Down	Signif.	p-value
Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy	5	0	5	1,99	1,0E-02	19	9	10	5,65	2,0E-06	6	4	2	2,25	5,6E-03
Ferroptosis	5	0	5	3,22	6,0E-04	10	2	8	3,24	5,7E-04	6	2	4	3,73	1,9E-04
Focal Adhesion-PI3K-Akt-mTOR-signaling pathway	14	7	7	2,96	1,1E-03	50	29	21	6,51	0,0E+00	19	12	7	4,38	4,2E-05
Metabolic reprogramming in colon cancer	4	0	4	2,19	6,4E-03	12	1	11	4,28	5,2E-05	4	0	4	1,88	1,3E-02
miR-targeted genes in muscle cell - TarBase	15	2	13	1,88	1,3E-02	69	31	38	8,56	0,0E+00	21	15	6	3,3	5,1E-04
NRF2 pathway	7	0	7	1,85	1,4E-02	26	9	17	4,36	4,4E-05	8	2	6	1,87	1,3E-02
Nuclear Receptors Meta-Pathway	12	3	9	1,79	1,6E-02	54	24	30	7,16	0,0E+00	20	6	14	4,5	3,2E-05
PI3K-Akt Signaling Pathway	17	8	9	3,86	1,4E-04	50	31	19	4,9	1,3E-05	21	13	8	4,66	2,2E-05
Prostaglandin Synthesis and Regulation	4	4	0	2,05	8,8E-03	12	7	5	3,86	1,4E-04	4	1	3	1,75	1,8E-02

Рисунок 31. Общие пути и процессы выявленные в результате обогащением списков генов, полученных в процессе транскриптомного анализа для различных групповых сравнений (Eu - эутопический эндометрий, Ecto - эктопический эндометрий, Norm – нормальный эндометрий).

Примечание: В таблице приведены названия общих для трех групп сравнения путей и процессов, отобранных на основании значимости и достоверности. Указано общее количество дифференциально экспрессированных генов (Total), генов с повышенной (Up) и пониженной (Down) экспрессией. Также приведены параметры значимости и достоверности.

Обращает на себя внимание наличие путей, связанных с регуляцией клеточной адгезии и соответствующими сигнальными каскадами (Arrhythmogenic cardiomyopathy, Focal Adhesion-PI3K-Akt-mTOR), с регуляцией жизнеспособности клеток (Ferroptosis, Metabolic reprogramming in colon cancer) и их дифференцировки (miR targeted genes in muscle cells, PI3K-Akt signalling), а также с воспалительными реакциями и окислительным стрессом (NRF pathway, nuclear receptors pathway, prostaglandin synthesis and regulation) (приложение 2).

В заключении, на основании полученных данных можно отметить, что изменение экспрессии микроРНК, может служить дополнительным фактором, участвующим в патогенезе эндометриоза.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Эндометриоз остается одним из самых загадочных гинекологических заболеваний женщин репродуктивного возраста, несмотря на более чем вековую историю изучения [138]. В структуре гинекологических заболеваний, эндометриоз занимает третье место, уступая лишь воспалительным заболеваниям и миоме матки [139]. Эндометриоз сопровождается до 80% случаев дисменореей и/или хронической тазовой болью, а также бесплодием до 40% случаев [140]. По данным Л.В. Адамян, около 21% пациенток отмечали появление первых клинических признаков в возрасте до 15 лет [1].

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению этиологических и патогенетических факторов эндометриоза, остается неясным то, почему часть отторгнутых клеток эндометрия сохраняют жизнеспособность, кроме того, способны к имплантации и инвазии в не характерных для функционирования местах. При этом, ни возраст, ни менструальная и репродуктивная функция не играют значимой роли. При доброкачественном характере течения заболевания, для эндометриоза характерно агрессивное распространение с инвазией на нерепродуктивные органы малого таза, что нередко сопровождается потерей трудоспособности и ухудшением качества жизни у этих женщин. Эти нерешенные вопросы служат стимулом для дальнейших фундаментальных и клинических исследований проблемы эндометриоза.

Одним из наиболее перспективных в решении данного вопроса является изучение клинико – морфологических, инструментальных и молекулярных особенностей при ретроцервикальном эндометриозе, как наиболее агрессивной форме заболевания.

В настоящее исследование было включено 120 пациенток с ретроцервикальным эндометриозом. В процессе клинического исследования все пациентки были разделены на 4 равные подгруппы в зависимости от распространения и сочетания с миомой матки в одной подгруппе: IA подгруппа – с ретроцервикальным эндометриозом, IB - с ретроцервикальным

эндометриозом в сочетании с вовлечением толстой кишки, ІВ - с ретроцервикальным эндометриозом и эндометриоидной кистой яичника и ІГ - с ретроцервикальным эндометриозом в сочетании с миомой матки.

Анализ клинико–anamнестических данных пациенток с ретроцервикальным эндометриозом и без данного заболевания выявил ряд характерных особенностей для пациенток с ретроцервикальным эндометриозом. Были установлены отличительные признаки между подгруппами основной группы.

Анализ возрастного периода показал, что РЦЭ характерен для пациенток среднего репродуктивного возраста. Так, средний возраст пациенток с ретроцервикальным эндометриозом составил $33,75 \pm 5,25$ ($p < 0,001$). Данный фактор, по – видимому, объясняется быстро прогрессирующим и агрессивным течением ретроцервикального эндометриоза с наиболее активным клиническим проявлением в течение данного периода. Полученные данные согласуются с результатами исследований Р. Lukovich и др [77, 141, 155], которые обнаружили наибольшую встречаемость данного заболевания пропорционально возрасту, по мнению авторов, данный факт подтверждает прогрессирующий характер течения заболевания.

Жалобы на общую слабость, утомляемость, психоэмоциональную нестабильность, ухудшение работоспособности отмечали все пациентки (100%). Согласно исследованиям Е.Л. Яроцкой [146], эндометриоз следует рассматривать как патологический процесс, одним из факторов которого является психоэмоциональный фон.

При госпитализации, болевой синдром у пациенток был представлен различной степени интенсивности и вариаций. Так пациентки ІА и ІГ подгрупп отмечали тянущие, периодические боли в нижних отделах живота в 29/30 (96,6%) и 12/30 (40%) наблюдениях соответственно ($p < 0,001$). В зависимости от степени распространения ретроцервикального эндометриоза и вовлечения в эндометриоидный инфильтрат органов нерепродуктивной системы клиническая картина может изменяться. Так у пациенток ІБ подгруппы

наблюдались кровянистые выделения из прямой кишки во время менструации (8/30 (26,6%)), вздутие живота до и во время менструации (18/30 (60%)), послабление стула (12/30 (40%)), а также боли при половых контактах (16/30 (53,3%)) ($p < 0,001$). В связи с клинической симптоматикой желудочно – кишечного тракта пациентки неоднократно обращались к колопроктологу, гастроэнтерологу, получали консервативную, симптоматическую терапию с некоторым положительным эффектом. Несвоевременная постановка диагноза и лечение обусловили прогрессирование основного заболевания. У женщин IV подгруппы боли иррадировали в промежность (9/30 (30%)), область крестца (14/30 (46,7%)) ($p < 0,001$), в нижние конечности (7/30 (23,3%)). У пациенток II подгруппы наблюдалось сочетание таких симптомов, как обильные менструации у 20/30 (66,6%) и тянущие боли в нижних отделах живота у 12/30 (40%) ($p < 0,001$). Однако, бессимптомное течение заболевания отмечено у 5/30 (16,6%) и 4/30 (13,3%) пациенток IA и II подгрупп соответственно, что явилось диагностической находкой на профилактических осмотрах.

Таким образом, для больных ретроцервикальным эндометриозом характерны жалобы на: тянущие боли в нижних отделах живота и/или с иррадиацией в промежность, область крестца, в нижние конечности, диспареуния, вздутие живота и послабление стула во время менструации, обильные менструации. Как отмечено различными исследователями в области глубокого инфильтративного эндометриоза [153, 153, 155], для ретроцервикального эндометриоза характерно сочетание и взаимоотношение клинических симптомов с быстро прогрессирующим характером течения заболевания.

Особое внимание уделяли изучению перенесенных экстрагенитальных заболеваний. При сравнительном анализе, у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом установлено, что частота в 2 раза превышала таковую в группах сравнения. Так с высокой частотой встречались заболевания желудочно – кишечного тракта (хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, хронический панкреатит, холецистит, колит) у

54/120 (45%) пациенток с ретроцервикальным эндометриозом, наиболее часто у пациенток IA подгруппы – у 19/30 (63,3%) и II подгруппы – у 16/30 (53,3%) ($p < 0,001$). Вероятно, что некоторая доля заболеваний желудочно-кишечного тракта у пациенток, является следствием несвоевременной диагностики эндометриоза соответствующих органов и отсутствие комплексного лечения. Либо, наличие заболеваний органов желудочно-кишечного тракта предопределяет вовлечение их в эндометриозный инфильтрат. Однако, по данным исследователей N. Ouchi и др [81, 142, 143], высокая частота заболеваний желудочно-кишечного тракта у больных эндометриозом, влияет на метаболизм, замедляя действие биологически активных веществ, пропорционально провоцируя стойкое активирующее влияние на органы – мишени.

Обращает внимание чрезвычайно высокая частота ($n=37/120$) (30,8%) ($p < 0,001$) соматоформной дисфункции вегетативной нервной системы у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом, которая проявлялась «чувством сердцебиения», что вероятно обусловлено психоэмоциональным фоном данных пациенток и находит подтверждение у исследователя В.П. Баскакова [144].

Заболевания сердечно – сосудистой системы выявлены у 23/120 (19,1%) пациенток с ретроцервикальным эндометриозом, однако достоверных отличий по частоте заболеваемости в сравниваемых группах отмечено не было ($>0,05$).

В структуре эндокринных заболеваний следует отметить заболевания щитовидной железы с равным распределением в подгруппах больных РЦЭ – 16/120 (13,3%) наблюдений, однако достоверных различий по частоте заболеваемости в сравниваемых подгруппах не было, $p > 0,05$. Следует отметить, что в роли опосредованного патогенетического фактора рассматривают заболевания щитовидной железы. Дисфункция тиреоидных гормонов может способствовать нарушениям гисто- и органогенеза гормоночувствительных структур и формированию эндометриоза (Л.В. Адамян, 2015) [50].

Патология мочевыделительной системы в виде циститов с частыми обострениями наблюдалась у 23/120 (19,1%) пациенток с ретроцервикальным эндометриозом, достоверных различий по частоте заболеваемости в сравниваемых подгруппах не выявлено, $p > 0,05$.

Обращает внимание довольно высокая частота перенесенных оперативных вмешательств на органах малого таза в группе больных ретроцервикальным эндометриозом по сравнению с группой сравнения (40,8% и 26,6 %) соответственно ($p = 0,003$), что сопоставимо с данными мировой литературы [55, 145, 146]. Из перенесенных оперативных вмешательств следует выделить удаление доброкачественных кистом яичников у 8/120 (6,6%) и тубэктомия у 3/120 (2,5%) пациенток, иссечение и коагуляция очагов наружного генитального эндометриоза у 5/120 (4,1%), миомэктомия у 3/120 (2,5%), конизация шейки матки у 8/120 (6,6%).

Таким образом, анализ клинико-anamnestических данных показал, что для ретроцервикального эндометриоза характерны полиморфизм и неспецифичность клинических симптомов, отягощенный соматический анамнез (заболевания желудочно-кишечного тракта, а также соматоформная дисфункция вегетативной нервной системы). Данный факт находит подтверждение в результатах исследований Л.В. Адамян [70] и S. Sourial [38], что эндометриоз является системным заболеванием с развитием полиорганной недостаточности и синдромом взаимного отягощения.

Согласно анализу менструальной функции, у пациенток основной группы и группы сравнения, возраст менархе, установление и длительность менструального цикла, характер менструальных выделений не отличались от среднестатистических показателей. Возраст менархе в обеих группах составил $13,1 \pm 1,1$ лет, менструальный цикл установился в течение 1 года. Средняя длительность менструального цикла составила $28,2 \pm 1,9$ дней. Длительность менструальных кровотечений - $5,2 \pm 1,1$ дней. Больше число женщин (($n = 67/120$) (55,8%)) в I группе исследования отмечали болезненные менструации по сравнению с женщинами группы сравнения ($n = 5/30$) (16,6%)

($p < 0,001$). На межменструальные кровянистые выделения из половых путей до и после менструации по типу «мазни» указывали 22/120 (18,3%) женщин с ретроцервикальным эндометриозом ($p = 0,05$).

При оценке репродуктивной функции пациенток статистически значимые различия отмечены только по количеству родов, самое большое - у пациенток IA подгруппы – у 17/30 (56,6%), наименьшее количество родов у пациенток IB подгруппы - у 13/30 пациенток (43,3%) ($p < 0,005$). Одним из возможных причин, приводящих к патологическим процессам в эндометрии и развитию эндометриоза, следует отметить высокую частоту инвазивных вмешательств на матке. Особого внимания заслуживает большое число самопроизвольных абортов на ранних сроках беременности у пациенток IB подгруппы в 12/30 (40%) наблюдениях и IA подгруппы – в 6/30 (20%) наблюдениях, с последующим выскабливанием стенок полости матки.

Анализ репродуктивного анамнеза позволил установить, что у пациенток с РЦЭ в сочетании с поражением толстой кишки отмечено наименьшее количество родов и наибольшее количество самопроизвольных абортов, по мнению ряда авторов А. Pellicer др [275, 276, 277], данный факт связан с нарушением фолликулогенеза, который приводит к дисфункции овуляции, низкому качеству ооцитов, снижению скорости оплодотворения, эмбрионам низкого качества и снижению частоты имплантации.

Как отмечают многие исследователи R.O. Burney и др [41, 47, 49], важный вклад в развитии эндометриоза вносят воспалительные заболевания органов малого таза, которые формируют воспалительный фон и создают предпосылки к развитию патологических состояний эндометрия, развитию и диссеминации эндометриоза на нерепродуктивные органы малого таза. У исследуемых женщин, в анамнезе были отмечены перенесенные воспалительные заболевания органов малого таза у 13 (10%), инфекции передаваемые половым путем у 7 (5,8%), однако достоверных различий в сравниваемых группах и подгруппах выявлено не было.

Показанием к оперативному лечению исследуемых пациенток явился ретроцервикальный эндометриоз различной степени распространенности, клинически проявляющийся тазовой болью и бесплодием. По мнению ряда авторов [147, 148, 149, 150, 151, 152], именно тазава боль является причиной обращаемости женщин с данной патологией за медицинской помощью с последующим выполнением им оперативного лечения.

Диагностика ретроцервикального эндометриоза нередко представляет определенные трудности, в связи с чем, с целью определения тактики и объема оперативного лечения, на неинвазивном этапе мы проводили комплексное обследование, включающее общеклинические и инструментальные методы.

Известно, что при бимануальном исследовании, ретроцервикальный эндометриоз определяется как болезненный опухолевидный инфильтрат плотной консистенции в проекции заднего свода влагалища, инфильтрированными и болезненными крестцово-маточными связками, ограничивающих подвижность матки. Но следует отметить, что диагноз требует подтверждения с помощью инструментальных методов исследования для уточнения распространенности патологического процесса, степени инфильтрации в подлежащие органы и ткани, что в дальнейшем определяет выбор и тактику хирургического вмешательства.

При выполнении нашего исследования мы использовали известные методы диагностики данного заболевания – ТВУЗИ и МРТ органов малого таза, колоноскопию. Более детальное обследование пациенток предпринималось для уточнения глубины инвазии ретроцервикального эндометриоза и топографо-анатомических взаимоотношений органов малого таза, что являлось определяющим объемом хирургического вмешательства. Мы провели анализ диагностической ценности каждого из методов в сравнении между собой и с интраоперационными данными. Во всех случаях диагноз подтвержден гистологическим исследованием операционного материала.

Полученные акустические характеристики эндометриоидных кист и ретроцервикальных инфильтратов хорошо известны и описаны в литературе

[156, 157, 158]. Однако нельзя не отметить, что ТВУЗИ имеет ряд ограничений в оценке тяжести эндометриоза и спаечного процесса органов малого таза. Наши данные подтвердили, что информативность УЗИ у пациенток была различной, зависела от размеров и локализации эндометриоидного очага. Так при эндометриоидных кистах яичников (95%) и поражении кишки (87,3%), информативность ТВУЗИ выше, чем при изолированной форме ретроцервикального эндометриоза – 68,75%. Чувствительность ТВУЗИ для выявления спаечного процесса у больных ретроцервикальным эндометриозом составляла – 29,13%, специфичность – 60,0%, прогностичность положительного результата – 91,67%, прогностичность отрицательного результата – 3,12%.

Метод ТВУЗИ в нашем исследовании обладал достаточной прогностической значимостью для выявления ретроцервикального эндометриоза с вовлечением толстой кишки (IB подгруппа) и в сочетании с эндометриоидными кистами яичников (IV подгруппа). Однако сканирование изолированного ретроцервикального эндометриоза (IA подгруппа) и в сочетании с миомой матки (II подгруппа) оказалось наиболее затруднительным. Для выявления спаечного процесса органов малого таза, ТВУЗИ является малоинформативным методом исследования.

В настоящее время известно, что МРТ органов малого таза позволяет выявить не только объемные эндометриодные инфильтраты, но и единичные гетеротопии на тазовой брюшине или серозном покрове органов малого таза, диагностировать степень прорастания стенки толстой кишки и спаечный процесс органов малого таза различной степени выраженности [104, 159, 160].

Неоспоримым преимуществом МРТ является точность и высокая разрешающая способность, что позволяет определить характер патологического образования, локализацию, распространенность патологического процесса. В результате проведенного исследования, нами выявлено совпадение интраоперационного диагноза с результатами МРТ у пациенток IB и IV подгрупп. Наибольшую диагностическую ценность МРТ

имеет при выявлении эндометриоидных инфильтратов с распространением на стенку кишки – 98,6% или поражением яичников – 97,4%. С помощью МРТ органов малого таза можно диагностировать вовлеченность в инфильтрат серозной/мышечной стенки кишки, что является недостатком для колоноскопии. Однако случаи несовпадения данных МРТ и интраоперационной картины отмечены у пациенток с изолированным ретроцервикальным эндометриозом (чувствительность – 94,8%, специфичность – 92,3%) и миомой матки (чувствительность – 89,6%, специфичность – 77,3%). Однако, ТВУЗИ и МРТ обладают меньшей чувствительностью при смежных патологиях репродуктивных органов, как миома матки и ретроцервикальный эндометриоз, при которых результаты чувствительности составили 36,6% и 89,6% соответственно.

Таким образом, наиболее информативным из неинвазивных методов является магнитный резонанс (МР), обеспечивающий благодаря высокой разрешающей способности МР-томографа отличную визуализацию органов малого таза и их структуры. Однако, при не выраженных спайках органов малого таза как ТВУЗИ так и МРТ являются малоинформативными – 29,13% и 59,23% соответственно. Большую диагностическую ценность приобретает метод при множественных и выраженных спайках малого таза. Это имеет важное значение, т.к. общеизвестно: спаечный процесс органов малого таза является косвенным признаком наличия эндометриоза в малом тазу [161].

У пациенток IB подгруппы с поражением толстой кишки проводили колоноскопию с прицельной биопсией подозрительного очага. Следует отметить, что у 17 женщин была подтверждена инфильтрация кишки до слизистой оболочки, в то время как, только 8/30 (26,6%) пациенток отмечали кровянистые выделениями из прямой кишки во время менструации. На вздутие живота до и во время менструации указывали 18/30 (60%) женщин, послабление стула 12/30 (40%) пациенток. Полученные данные согласуются с данными других исследователей [162, 163, 164].

Наиболее точным методом диагностики наружного генитального эндометриоза по настоящее время остается лапароскопия. Современная эндоскопическая аппаратура позволяет визуализировать, в том числе, изолированные эндометриоидные гетеротопии за счет многократного увеличения изображения на мониторе, что подтверждается мнением известных исследователей [165, 166].

Отличительной особенностью ретроцервикального эндометриоза является способность к инфильтрации подлежащих органов, заднего свода влагалища, крестцово-маточных связок, при более запущенных процессах - поражение кишки и боковых стенок малого таза. Однако полная визуализация патологического очага и доступ позволяет только лапароскопия, поскольку ретроцервикальный эндометриоз не имеет границ, капсул и способен к инфильтрированному росту. При этом не следует приуменьшать роль предоперационного обследования, включающего ТВУЗИ, МРТ и колоноскопию. Каждый из методов имеет свою диагностическую ценность и не заменяет, а предоставляет дополнительную информацию.

Следует подчеркнуть, что первым этапом всех эндоскопических операций является оценка характера патологического инфильтрата органов малого таза, уточнение объема и радикальности планируемого оперативного вмешательства.

Во всех исследуемых подгруппах отмечался спаечный процесс различной степени распространения. Так наиболее выраженные спайки (III – IV степени) распространения были отмечены у всех пациенток IB подгруппы, при котором спаечный процесс распространялся на органы малого таза, связочно-мышечный аппарат матки, петли кишки и боковые стенки таза.

Так согласно исследованиям Адамян Л.В. [167]., поражение яичников является наиболее частым и занимает одно из лидирующих мест всех локализаций эндометриоза, что вероятно связано с несвоевременной диагностикой патологии. Необходимость удаления эндометриоидных кист яичников связана в первую очередь с онконастороженностью, с другой

стороны, обусловлено тем, что эндометриодные кисты яичников играют значительную роль в генерализации процесса развития эндометриоза [77, 168]. Наиболее типичным явлением при эндометриозе яичников является фиксация фиброзной тканью последнего в подъяичниковой ямке, что указывает на длительность существования эндометриомы. Механизм возникновения подъяичниковых спаек объясняют периодическими самопроизвольными микроперфорациями стенки кисты и асептическим воспалением, приводящего к фиксации поверхности яичника к боковой стенке таза [169], что возможно связано с малоподвижностью этих образований.

Инфильтративная форма ретроцервикального эндометриоза с вовлечением подлежащих органов и тканей малого таза является наиболее тяжелым проявлением заболевания. Полученные клинические данные свидетельствуют о том, что наиболее выраженные клинические проявления заболевания сопровождаются симптомами поражения вовлеченных в процесс органов. Тяжесть эндометриоза обусловлена в каждом конкретном случае степенью поражения того или иного органа, наличием или отсутствием нарушения их функции. Распространенность процесса и тяжесть клинической симптоматики при ретроцервикальном эндометриозе с поражением нерепродуктивных органов малого таза свидетельствует о том, что необходимо акцентировать внимание врачей и пациентов на детализации неспецифических жалоб для гинекологических больных.

Хирургическое лечение с инфильтративным ретроцервикальным эндометриозом представляет сочетанное и травматичное вмешательство, требует анестезиологического обеспечения, высокой квалификации хирурга и определенной оснащенности операционной. Успех оперативного вмешательства у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом и вовлечением подлежащих органов прямо пропорционален объему проведенного вмешательства. Паллиативное вмешательство при эндометриозе приводит к более быстрому пролиферирующему росту и усугублению клинической картины, с последующей необходимостью повторной и более

травматичной операции. При поражении подлежащих органов к инфильтрату необходимо выполнять сочетанное оперативное вмешательство по удалению всех доступных эндометриoidных очагов как на репродуктивных и нерепродуктивных органах малого таза. Известно, что аппендикс часто вовлекается в спаечный процесс и поражается эндометриозом, что может приводить к перфорации стенки червеобразного отростка и перитониту [170]. Ввиду этого, у одной пациентки нами выполнена аппендэктомия.

В послеоперационном периоде необходимо назначать антибиотики широкого спектра действия и их комбинации, поскольку обширная операционная травма, повышенная кровоточивость тканей, может приводить к образованию гематом с опасностью их инфицирования в послеоперационном периоде. У больных сочетанными операциями необходимо проводить мероприятия по коррекции нарушений гомеостаза, водно-электролитного и белкового обмена, свертывающей системы крови. Важное значение имеет коррекция гиперкоагуляции в послеоперационном периоде, что особенно важно после длительных и травматичных операций.

Обязательным и не менее важным компонентом реабилитации пациенток с РЦЭ является комплексная терапия.

Таким образом, мы представили клинические особенности ретроцервикального эндометриоза. Показали, что в каждой подгруппе с РЦЭ в зависимости от локализации и степени вовлечения в эндометриoidный инфильтрат толстой кишки или яичников женщины выделяют основную характерную жалобу.

Используя в диагностике РЦЭ известные методы, такие как ТВУЗИ, МРТ и колоноскопию, провели сравнительный анализ их диагностической ценности. И показали, что каждый из этих методов является не взаимозаменяющий, а взаимодополняющий. Согласно разработанному алгоритму (приложение 1) для правильной диагностики и выполнения оптимального объема хирургического лечения необходимо последовательное применение ультразвукового исследования органов малого таза, магнитно-резонансной томографии,

колоноскопии и лапароскопии с гистологической верификацией операционного материала.

Морфология эндометриоидных инфильтратов известна [171, 172, 173, 174]. Но в нашем исследовании мы попытались выявить клинко-морфологические особенности в каждой из подгрупп пациенток с РЦЭ.

Анализ морфологического исследования эндометриоидных инфильтратов выявил особенности в зависимости от локализации и вовлечения в патологический процесс яичников, толстой кишки и миомы матки.

У пациенток IA подгруппы преобладали жалобы на тянущие боли в нижних отделах живота, так как морфологическим субстратом жалоб был в основном очаг ретроцервикального эндометриоза. Особенность иннервации данного отдела - чувствительные нервные волокна сопровождают парасимпатические волокна ко второму, третьему и четвертому крестцовым сегментам – является одной из «морфологических направляющих» или «морфологической сетью» для распространения эндометриоидных гетеротопий, поскольку рост очагов происходит в том числе по ходу нервных волокон. Инфильтрация нервных окончаний эндометриозом приводит к повреждению нервных волокон и узлов с нарушением регенераторных способностей и формированием невринома [191].

В подгруппе IB наиболее часто отмечались диспареуния и вздутие живота во время менструации. В этой подгруппе выявлялось нарушение гистологической архитектоники стенки кишки за счет формирования эндометриоидных гетеротопий с окружающими их гипертрофированным мышечным валиком, что приводит к нарушению синхронной работы гладкомышечного компонента стенки кишки и, как следствие, нарушению функциональной моторики кишки. Кроме того, известно, что распространение эндометриоидных гетеротопий происходит по ходу нервных ганглиев, что приводит к нарушению ноцицепции в пораженном участке, что функционально может выражаться в появлении симптомов диспареунии и других болевых симптомов [192].

В подгруппе IV преобладали иррадиирующие в область крестца тянущие боли внизу живота. Морфологическим субстратом симптомокомплекса жалоб в этой группе служат помимо ретроцервикального эндометриоза кистозные образования яичников (эндометриоидные кисты). Важной компонентой морфологических изменений в данном случае является не только природа кистозного образования (циклические изменения выстилающего слоя приводят к определенной периодичности и выраженности болевого синдрома), но и его объем и соотношение с прилежащими тканями. При образовании спаек и воспалительных изменений в стенке капсулы изменяется характер и выраженность болевого синдрома, периодичность его возникновения [193].

В группе II преобладала жалоба на обильные менструальные кровотечения, морфологическим субстратом служит деформация полости матки межмышечными миоматозными узлами с центрипетальным ростом и узлами с субмукозным расположением, что приводит к неравномерным структурным перестройкам и отторжению эндометрия с нарушением процессов ангиогенеза [194].

Таким образом, ретроцервикальный эндометриоз как изолированной формы так и с поражением подлежащих органов и тканей малого таза является наиболее сложной и тяжелой формой заболевания. Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, неблагоприятный преморбидный фон (перенесенные экстрагенитальные и гинекологические заболевания) способствуют нарушению физиологических и защитных процессов, облегчая диссеминации и инвазии клеток эндометрия в несвойственных им местах. Выявленные различия в течении ретроцервикального эндометриоза в сравниваемых подгруппах стали основанием для изучения патогенетических факторов и сопоставления клинических, инструментальных и патоморфологических особенностей.

Обсуждение результатов молекулярного исследования

Диагностические подходы к пациенткам с инфильтративными формами эндометриоза обсуждаются до настоящего времени и представляют наиболее актуальный аспект данной проблемы, в силу отсутствия надежных неинвазивных биомаркеров заболевания, что в свою очередь диктует разработку молекулярных методов ранней диагностики заболевания [175, 176, 177, 178].

Сравнительный анализ экспрессии микроРНК в эктопическом эндометрии относительно эутопического или нормального эндометрия выявил существенные отличия в парах сравнения: 74 микроРНК для пары эктопический и 63 в паре эктопический-нормальный. При сравнении списков микроРНК из этих пар было выявлено 50 общих представителей. Наличие уникальных микроРНК в каждой паре сравнения может быть связано как с влиянием патологии, так и с индивидуальными отличиями при сравнении парных и непарных образцов. Для пары сравнения эутопический- нормальный эндометрий существенных отличий выявлено не было.

В результате поиска в базах литературных источников были найдены исследования, в которых экспрессия микроРНК при эндометриозе изучалась с помощью микрочиповой технологии [126, 179, 180] ПЦР [181, 182, 183, 184] и с использованием высокопроизводительного секвенирования [185, 186]. По данным этих исследований в тканях эндометриозных очагов наблюдается снижение (miR-202-3p, miR-424-5p, miR-449-3p, miR-556-3p, miR-126, miR-15, miR-17-5p, miR-20a, miR-200a, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-182, miR-141) и повышение (miR-143, miR-145, miR-449a, miR-34c, miR-200a, miR-200b, miR-141, miR-20a, miR-29c, miR-21, miR-125a, miR-222, miR-202, miR-99a, miR-126, miR-451) экспрессии ряда микроРНК [233]. Полученные нами данные также включают список указанных микроРНК, направления изменений которых в парах сравнения также совпадают.

Для оценки функциональной роли, был проведен биоинформационный анализ потенциальных генов-мишеней дифференциально экспрессированных микроРНК. Поскольку микроРНК потенциально могут взаимодействовать с

мРНК десятков белков, первичный анализ генов-мишеней нескольких десятков микроРНК дает список, состоящий из нескольких тысяч возможных белков. При этом для многих пар микроРНК-мРНК информация об экспериментальном подтверждении их взаимодействия и влиянии на клеточную функцию отсутствует. В этой связи, для поиска генов-мишеней нами была использована база данных MirTarBase, в которой собрана информация о валидированных взаимодействиях микроРНК с их мишенями, полученная экспериментальным путем с использованием набора различных методических подходов. Для исследования нами были отобраны мишени, взаимодействие с которыми было подтверждено не менее чем тремя методами, что свидетельствует о высокой степени валидации. Таким образом, были получены списки генов-мишеней, которые с высокой вероятностью могут вносить вклад в регуляцию клеточных функций.

На основании полученных списков валидированных генов-мишеней проводилось обогащение сигнальных путей и клеточных процессов, по которым можно судить о возможной функциональной роли дифференциально экспрессирующихся микроРНК. Выявленные биологические процессы и пути сигнализации относятся к большинству ключевых клеточных функций, участвующих в патогенезе эндометриоза, которые согласуются с полученными ранее данными других исследователей. Среди этих процессов: клеточный цикл и связанные с ним процессы, такие как апоптоз, гибель и пролиферация клеток; дифференцировка клеток и развитие эпителия; ангиогенез и связанные с ним процессы, включая развитие сосудистой системы, сигнальная сеть васкулярно-эндотелиального фактора роста (VEGF) и его рецептора (VEGFR); миграция клеток и регуляция клеточной подвижности и адгезии, положительная регуляция межклеточных коммуникаций, регуляция фокальной адгезии, плотных и щелевых контактов; клеточные ответы на окислительный стресс, гипоксию и стимуляцию стероидными гормонами [25, 187, 188, 189, 190, 191, 192].

Также было показано обогащение по ряду сигнальных путей, которые играют решающую роль в большинстве клеточных процессов при эндометриозе: сигнальный путь MAPK; EGFR сигнальный каскад; mTOR сигнальный каскад; сигнальный путь TGF- β ; сигнальный путь Wnt; пути киназы PI3K; PDGF сигнальный путь; p53 сигнальный путь, а также Hedgehog сигнальный каскад [193, 194, 195, 209, 210]. Кроме этого, были выявлены клеточные пути, участвующие в канцерогенезе, которые, возможно, участвуют и при эндометриозе, что также подтверждается данными исследования Wei и соавторов [196].

В результате обогащения были выявлены процессы, связанные с регуляцией иммунных функций различными интерлейкинами (IL-1,-4,-5,-7,-9). В ряде работ было установлено разнонаправленное изменение концентрации некоторых интерлейкинов (IL-2,-5,-7,-9) в тканях эктопических очагов в сравнении с эутопическим эндометрием. Так для IL-2 наблюдалось повышение, а для IL-5, -7, -9 снижение в тканях эктопического эндометрия [197].

Изменение экспрессии в эндометриоидных очагах было показано и для рецепторов IL-1, что может свидетельствовать о нарушении регуляции воспалительной реакции, контролируемых данным рецептором [198]. Известно, что IL-1 может стимулировать выделение IL-6 в ряде клеток, таких как: фибробласты, клетки эндотелия и моноцитамы [199]. Кроме этого, было установлено, что под действием IL-1 клетки эндометрия увеличивают секрецию IL-8 [200]. Повышение концентрации IL-6 и IL-8 под действием IL-1 может стимулировать процессы миграции и активации лейкоцитов, что способствует развитию локального воспаления. Также было показано, что под действием IL-1 и TNF- α происходит повышение продукции в тканях эндометрия эстрогенов, стимулирующих продукцию IL-6 клетками эндометрия [201], который в свою очередь является ключевым регулятором воспалительных процессов в результате стимулирования процессов дифференцировки В-клеток и активации Т-лимфоцитов.

Другой молекулярной мишенью IL-1 может быть циклооксигеназа 2-го типа (COX-2), фермент, участвующий в синтезе простагландинов. Было показано, что IL-1 способен повышать экспрессию COX-2, с последующим увеличением синтеза простагландина E2 (PGE2). Повышение экспрессии рецептора IL-1 и снижение экспрессии его антагониста может приводить к гиперэкспрессии COX-2 в тканях эндометрия, что было подтверждено в ряде работ [202, 203]. Синтез и секреция PGE2 может дополнительно стимулировать экспрессию COX-2, кроме того, было показано, что PGE2 способен индуцировать продукцию ароматазы, которая является ключевым регуляторным ферментом в биосинтезе эстрогенов [204]. Таким образом, синтез PGE2 обеспечивает на локальном уровне поддержание повышенного содержания простаноидов и эстрогенов. Кроме этого, PGE2 также способен повышать фагоцитарную активность иммунных клеток и стимулировать ангиогенез через увеличение экспрессии VEGF [227], что дополнительно способствует выживанию клеток эндометриоидных гетеротопий. Указанные наблюдения согласуются с полученными нами данными об участии дифференциально экспрессированных генов и генов-мишеней мкРНК в путях биосинтеза простагландинов и сигнальных каскадах, запускаемых эстрогенами.

Продукция IL-5 наблюдается преимущественно в тучных клетках при развитии аллергического ответа поздней фазы [205] и может вносить существенный вклад в развитие воспаления в тканях эктопического эндометрия. Повышение содержания IL-7 может стимулировать продукцию MIP-1beta (воспалительный белок макрофагов), который является воспалительным хемокином. Повышенная экспрессия IL-7 была показана в воспаленных тканях при аутоиммунных заболеваниях [206]. Помимо IL-7, IL-2 и IL-10 также ассоциированы с аутоиммунными состояниями, что свидетельствует о наличии аутоиммунного компонента в комплексном иммуномодулирующем эффекте различных цитокинов. Имеются данные, указывающие на наличие изменений в активности В-клеток и увеличение количества аутоантител у женщин с эндометриозом. Среди них различают

антитела к фосфолипидам, гистонам, полинуклеотидам, а также антитела специфические к тканям эндометрия и яичников [207]. Таким образом, дисрегуляция иммунных ответов в тканях эктопического эндометрия может приводить к повышению активности макрофагов, усилению пролиферативного ответа со стороны лейкоцитов и клеток эндометрия и образованию аутоантител. Лейкоциты и другие клетки выделяют цитокины и факторы роста во внеклеточное пространство эндометрия, где они могут функционировать как паракринные медиаторы, влияющие на активность соседних тканей. Таким образом, воспалительный процесс и окислительный стресс могут вносить существенный вклад в совокупность патогенетических процессов, приводящих к нарушению функции яичников и снижению овариального резерва.

По данным биоинформационного анализа, были выявлены пути, связанные клеточным морфогенезом и дифференцировкой. Морфогенез, который является частью процесса дифференцировки, является механизмом, благодаря которому сосудистые и железистые ткани, приобретают свою форму и полностью развиваются в составе эндометриоидных очагов [208, 209]. Данные процессы обеспечиваются за счет Wnt, Notch, Hedgehog, TGF β , BMP сигнальных каскадов, компоненты которых являются мишенями дифференциально экспрессированных микроРНК. Изменение регуляторных влияний данных каскадов может приводить к нарушению процессов пролиферации, дифференцировки и эпителиально-мезенхимального перехода.

Анализ процессов, регулируемых дифференциально экспрессирующимися генами, позволил выявить ряд клеточных функций и путей внутриклеточной сигнализации, нарушение которых может приводить к развитию эндометриоза. Были выявлены пути, которые по вовлеченности в определенные процессы можно разделить на следующие группы: пролиферация, дифференцировка, эмбриогенез, морфогенез, ангиогенез, инвазия, миграция, метаболизм, воспаление. Важно отметить, что для большинства выявленных генов, в научной литературе отсутствуют данные о взаимосвязи кодируемых ими белков с патогенезом эндометриоза. Большая

часть исследований по экспрессии и функциональной активности выявленных генов посвящена изучению механизмов патогенеза опухолевого процесса. Однако, с учетом неопластического характера процессов развития эндометриоза, с известной осторожностью, можно экстраполировать эти данные для выявления закономерностей в анализируемых результатах.

С учетом комплексной и многоуровневой регуляции такого фундаментального процесса, как клеточное деление, представляется закономерным выявление при проведенном анализе групп генов, кодирующих белки клеточной адгезии, рецепторы и их лиганды, белки сигнальных каскадов и цитоскелета, ферменты и транскрипционные факторы. Также нужно отметить, что для большинства генов данной группы показано их участие в процессах клеточной миграции и инвазии [210].

Была так же выявлена группа генов, участвующих в процессах тканевого воспаления. Наблюдалось изменение экспрессии генов хемокинов, цитокинов и компонентов комплимента. Кроме этого, обнаруживались гены, связанные с окислительным метаболизмом полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Оксипирины играют важную роль в регуляции иммунных реакций, в частности миграции клеток иммунной системы, продукции провоспалительных цитокинов, что подтверждается повышением экспрессии синтазы простаглицина (PGI₂), способного стимулировать пролиферацию, и снижением экспрессии эпоксигеназы CYP2J₂, продукты которой (эпоксиды ПНЖК) способны оказывать противовоспалительное действие [233].

В связи с тем, что связывание микроРНК с мРНК не всегда приводит к изменению количества последней, для установления однозначного соответствия экспрессии микроРНК и мРНК генов-мишеней, необходимо проводить дополнительные лабораторные исследования с целью установления непосредственного взаимодействия микроРНК-мРНК, влияния микроРНК на содержание целевого белка в биообразце, а также влияния микроРНК на выполняемую белком функцию [233]. Таким образом, информация об экспрессии микроРНК, как регулятора трансляции целевого белка, может быть

дополнительным подтверждением его роли в патологическом процессе. Важно отметить, что анализ двух транскриптомов позволяет на разных уровнях молекулярной организации выявить возможные клеточные процессы, протекающие при изучаемой патологии. Сопоставление данных по обогащению двух транскриптомов позволяет выявить совпадающие процессы и является дополнительным подтверждением их значимости в патогенезе заболевания, а компоненты данных процессов могут рассматриваться в качестве потенциальных терапевтических мишеней. По данным проведенного анализа можно предложить несколько возможных кандидатов для дальнейших исследований [233]. Так, было показано, что мишенями дифференциально экспрессированных микроРНК являются белки Wnt-сигнального пути. Среди проанализированных генов было выявлено 4 представителя, участвующих на разных уровнях в Wnt-сигнальном каскаде. Известно, что активация данного сигнального пути играет важную роль в таких неопластических процессах, как пролиферация, миграция и инвазия клеток [211]. Запуск каскада начинается с активации Wnt-лигандами специфических (Frizzled) рецепторов, кодируемых семейством FZD-генов. Анализ данных показал повышенную экспрессию Wnt2B-лиганда и генов Wnt-рецепторов FZD7 и FZD4 в очагах эктопического эндометрия, при этом экспрессия рецепторов FZD 5 и 6 была снижена. Также наблюдалось повышение экспрессии гена WISP1, который является компонентом Wnt-каскада и может участвовать в активации пролиферации и ингибирования апоптоза. Регуляция работы транскрипционных факторов (SOX17) может свидетельствовать об участии данного пути в различных аспектах жизнедеятельности клеток эндометрия. Так, имеются данные о том, что эпителиально-мезенхимальный переход, способствующий распространению эктопического эндометрия, может находиться под контролем Wnt-зависимых путей. В пользу участия Wnt-каскада в патогенезе эндометриоза свидетельствуют результаты исследований, в которых была показана повышенная секреция Wnt-лигандов стромальными клетками эктопических очагов, а также усиление синтеза коллагена при активации Wnt-

каскада [212]. Таким образом, активация данного сигнального пути может участвовать как в формировании эндометриоидного очага, так и в развитии спаечного процесса. Представляется перспективным изучить выявленные компоненты Wnt-каскада, поскольку в данном исследовании обнаружено сразу несколько генов, ассоциированных с этим путем, а в научной литературе представлены единичные исследования этого пути в патогенезе эндометриоза [233].

Значимым для выявления особенностей патогенеза эндометриоза представляется изменение экспрессии генов, участвующих в клеточной адгезии (GPC3, GJB6, CDH1), в эпителиально-мезенхимальном переходе (HOOK1, ESPR1) и процессах фиброобразования тканей (MYTH, ADH13). Существует ли взаимосвязь между экспрессией этих генов и Wnt путем, или эти процессы идут независимо, пока не известно [233].

При изучении экспрессии микроРНК и мРНК при помощи омиксных технологий (микрочиповых технологий или высокопроизводительного секвенирования) получается обширный список, состоящий из десятков или сотен дифференциально экспрессирующихся микроРНК или мРНК [233]. Полученные списки представителей, формирующих отличия между группами сравнения, можно использовать для выбора потенциальных диагностических маркеров заболеваний. В нашем исследовании при помощи метода секвенирования была проведена оценка отличий состава микроРНК плазмы крови у больных эндометриозом. Было идентифицировано 359 прочтений с различной представленностью, соответствующих микроРНК. Из них было выявлено 68 микроРНК с количеством прочтений более пятидесяти, из которых у 20 микроРНК количество прочтений было более пятисот. Количество прочтений является параметром относительной представленности микроРНК в исследуемом образце. Низкие значения количества прочтений существенно снижают вероятность детекции и использования в сравнительном анализе кандидатных микроРНК. Полученные данные статистической обработки с использованием поправки на множественные сравнения свидетельствуют об

отсутствии достоверных изменений состава микроРНК в плазме крови при эндометриозе. Аналогичный анализ тканей эутопического эндометрия больных эндометриозом и пациентов, не страдающих данным заболеванием, выявил четыре микроРНК с повышенной экспрессией, среди которых на основании количества прочтений было отобрано две (miR-143-3p, miR-200a-3p). Валидация методом ПЦР подтвердила отличия экспрессии данных микроРНК в эутопическом эндометрии у больных эндометриозом. Также был проведен сравнительный анализ экспрессии данных микроРНК при других патологиях матки: полипе эндометрия и миоме. Было показано, что экспрессия miR-143-3p специфически повышается при эндометриозе, тогда как экспрессия miR-200a-3p по сравнению с контролем повышена при всех пролиферативных заболеваниях. Недавно было показано антипролиферативное действие miR-143-3p в отношении некоторых видов опухолевых клеток. Можно предположить, что повышение экспрессии miR-143-3p может также служить негативным регулятором клеточного деления в эндометрии при эндометриозе. [213, 214].

По данным недавних работ miR-200a-3p же может принимать участие в регуляции клеточного деления. Так стимулирующее влияние miR-200a-3p на пролиферацию было недавно показано в отношении клеток рака пищевода [215]. Таким образом, повышенная экспрессия данных микроРНК может свидетельствовать об активации пролиферативных процессов в исследуемых тканях.

В данном исследовании было продемонстрировано повышение экспрессии генов в эктопическом эндометрии, способных регулировать процессы формирования болевого синдрома. Выявленные гены могут участвовать в процессах нейрогенеза, проводимости и модуляции нервного импульса, воспалительных реакциях, приводящих к сенсibilизации нервных окончаний.

Так среди генов, участвующих в нейрогенезе, было показано повышение экспрессии гена NCAM1 (neuronal cell adhesion molecule). Данный ген кодирует

гликопротеин, обеспечивающий формирование межклеточных контактов и участвует в процессах синаптической пластичности [216, 217]. Повышенная экспрессия гена NCAM1 как в эутопической эндометрии, так и в эндометриотических поражениях была также продемонстрирована в ряде работ [218, 219]. Усиление активности NCAM1 может способствовать повышению иннервации эндометриодных очагов, что в свою очередь может приводить к повышению чувствительности к болевым раздражителям. В данной работе также отмечалось повышение генов, кодирующих факторы роста и другие регуляторные молекулы, обеспечивающие рост и развитие нейронов, формирование и рост нервных окончаний: NRN1 (neuritin 1), NEGR1 (neuronal growth regulator 1), EFNA5 (ephrin-A5), SERPINI1 (serpin peptidase inhibitor, neuroserpin), TMOD2 (tropomodulin 2). Усиление экспрессии генов нейрогенеза может быть связано как с ростом гетеротопий, так и с повреждением отростков нервных клеток в результате воспалительных процессов. Так повышение экспрессии генов нейрогенеза коррелировало с усилением боли у женщин при спаечном процессе [220, 221, 222]. Во время хронических болевых состояний происходит повышенная регуляция генов, участвующих в развитии нейронов [223]. Также при эндометриозе экспрессия генов нейрогенеза может способствовать повышению плотности сенсорных нервных волокон и снижению порога болевой чувствительности [224, 225]. В частности, корреляция между плотностью нервных волокон в очагах поражения и интенсивностью боли при эндометриозе была показана в недавней работе [226].

Таким образом, нарушение регуляции процессов нейрогенеза, которые участвуют в росте и развитии нервных окончаний, в процессах синаптической пластичности может способствовать усилению иннервации эндометриодных гетеротопий и развитию периферической сенсibilизации [225, 227, 250].

Одной из причин периферической сенсibilизации может служить развитие процессов воспаления в очагах эндометриоза и окружающих тканях. Наличие иммунной дисфункции и формирование воспалительного микроокружения в очагах эндометриоза было показано ранее в ряде работ [228].

Различные воспалительные медиаторы способствуют повышению чувствительности нервных окончаний, и усиление их экспрессии коррелирует с увеличением болевых симптомов [229], в частности, за счет снижения порога чувствительности сенсорных нейронов [230]. Повышенная экспрессия генов, участвующих в воспалении, как в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом, так и в эндометриоидных очагах была продемонстрирована ранее в ряде работ [231, 232, 233]. Анализ путей и процессов, протекающих с участием выявленных генов, показал вовлечение в реакции острого воспалительного ответа, за счет усиления продукции цитокинов и хемокинов и их рецепторов [234]. В нашем исследовании было показано повышение экспрессии генов некоторых хемокинов (CXCL12, CCL19, CCL21), а также генов, участвующих в синтезе простагландинов и их рецепторов: PTGIS (prostaglandin I₂ synthase), HPGDS (hematopoietic prostaglandin D synthase) и PTGER3 (prostaglandin E receptor 3). Кроме этого, анализ генов-мишеней дифференциально экспрессированных микроРНК показал их участие во внутриклеточных процессах запускаемых различными интерлейкинами, что также свидетельствует о возможном вкладе выявленных микроРНК в процессы воспаления. Таким образом, дифференциально экспрессируемые гены и микроРНК, участвующие в процессах воспаления не только вовлечены в патогенез эндометриоза, но и могут способствовать развитию болевого синдрома.

Изменение экспрессии генов, участвующих в синаптической активности и передаче нервного импульса по отросткам нейронов, также играет важную роль в развитие боли при эндометриозе. В работах ряда авторов было показано изменение экспрессии генов, участвующих в регуляции нервной проводимости, в эктопическом и эутопическом эндометрии женщин больных эндометриозом [235, 236]. Усиленная экспрессия этих генов повышает возбудимость и проводимость сенсорных нейронов, что приводит к усилению передачи болевого сигнала [237].

В частности, важную роль в проведении нервного импульса играет регуляция ионных токов (Na и K) в отростках нейронов. Изменение экспрессии ионных каналов в очагах эндометриоза было ранее показано в ряде работ. Так было установлено повышение экспрессии генов KCND3 и KCNC1, кодирующих потенциал-зависимые калиевые каналы были активируются [232]. Селективный поток ионов калия через клеточные мембраны формирует ионные градиенты, обеспечивающие модулирование нервной проводимости и регуляцию активности сенсibilизированных нейронов [238, 239], KCND3 кодирует калиевый канал, проводящий быстрые инактивирующие токи, тогда как KCNC1 кодирует калиевый канал, проводящий медленные активирующие токи [264]. Нами также было установлено повышение экспрессии калиевых каналов, активируемых ионами кальция и натрия (KCCN3 и KCNT2, соответственно). Кроме этого, наблюдалось повышение экспрессии потенциал зависимых натриевых каналов, кодируемых геном SCN7A, что в свою очередь может способствовать деполяризации мембраны нервного отростка и повышению проводимости. В случае интенсивной патологической стимуляции калиевые каналы способствуют усилению проводимости сигнала путем увеличения частоты генерации потенциала действия [264]. Таким образом, сенсibilизация нейронов может приводить к изменению экспрессии ионных каналов и нарушению проводимости.

В формировании болевого синдрома могут также участвовать гены, регулирующие активность нейромедиаторных систем. К данным эффекторам можно отнести рецепторы гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), которая является основным тормозным нейромедиатором. Изменение экспрессии ГАМК- рецепторов оказывает существенное влияние на процессы передачи болевых импульсов [240]. Нами было показано значительное снижение экспрессии генов GABRP и GABARAF, которые обеспечивают формирование функционального ГАМК рецептора А типа. Интересно, что при хронических болевых состояниях рецепторы ГАМК могут облегчать передачу боли, за счет снижения активности тормозных нейронов. Таким образом, как снижение, так

и повышение экспрессии рецепторов ГАМК может приводить к усилению проводимости болевых импульсов.

Важную роль в модуляции болевой чувствительности играет серотонинэргическая регуляция нейрональной активности. Было показано, что в эутопическом эндометрии серотониновый 1D рецептор (HTR1D) может быть одним из эффекторов, участвующих в формировании боли. На периферии рецепторы к серотонину присутствуют на сенсорных нервных окончаниях. Стимуляция серотониновых рецепторов приводит к усилению афферентной импульсации сенсорными нейронами [241]. В результате воздействия болевых стимулов серотониновые рецепторы способны как усиливать, так и ингибировать активацию различных ионных каналов [242]. Роль серотонинового рецептора 1D подтипа (HTR1D) была показана для болевого синдрома, индуцированного воспалением [262].

В нашем исследовании не было обнаружено дифференциальной экспрессии генов серотониновых рецепторов. Однако анализ генов-мишеней дифференциально экспрессированных микроРНК выявил ряд генов, участвующих в реализации клеточных ответов, запускаемых серотониновыми сигнальными системами, что может свидетельствовать об эпигенетической регуляции данного звена болевой чувствительности при эндометриозе.

В результате увеличения количества сенсорных нервных волокон и их сенсibilизации воспалительным микроокружением в очагах эндометриоза происходит усиление афферентной импульсации к центральным отделам нервной системы. В ответ на чувствительные сигналы на уровне спинного мозга происходит торможение возбуждающей импульсации, однако в случае хронических болевых состояний, таких как эндометриоз, стойкая сенсibilизация может приводить к формированию эфферентной импульсации, которая может оказывать возбуждающее действие и способствовать развитию хронической боли [227, 243, 244].

Таким образом, усиление регуляции ряда генов, участвующих в развитии нейронов, трансдукции, проводимости и модуляции сигнала, а также

сенсibilизации при воспалении может быть связано с болевыми симптомами при эндометриозе. Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе возникновения боли при эндометриозе, может в будущем способствовать разработке терапевтических подходов для борьбы с данным осложнением.

Формирование провоспалительного микроокружения при ретроцервикальном эндометриозе может служить причиной развития фиброза и образования спаек, которые нарушают работу органов малого таза, а также могут способствовать развитию болевого синдрома. Формирование спаек при эндометриозе в значительной степени связано с местными воспалительными реакциями и нарушением функций фибринолитической системы. Было показано, что повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, TNF- α , TGF- β и VEGF коррелирует с наличием спаек и тяжестью эндометриоза [245, 246]. TGF- β является основным драйвером фиброза при эндометриозе и может способствовать трансдифференцировке фибробластов в миофибробласты через Smad-зависимые и Smad-независимые сигнальные пути [247]; он также способствует эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМТ) клеток ectopического эндометрия и повышает их миграционную способность [248, 249]. Блокада TGF- β и его сопряженных мишеней тормозит ЭМТ и трансдифференцировку миофибробластов и рассматривается в качестве потенциального терапевтического подхода в лечении эндометриоза [250, 251].

На клеточном уровне исследователи сходятся во мнении, что миофибробласты являются клетками, в конечном счете ответственными за формирование фиброза и развитие рубцовой ткани [252]. Широко признано, что миофибробласты обладают высокой метаболической активностью и экспрессируют α -гладкомышечный актин (α -SMA), способствуя заметному увеличению продукции фибриллярных коллагенов (включая тип I, III, V и VI). Кроме этого, отмечалось повышение экспрессии тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMPs), которые ингибируют активность ферментов, деградирующих межклеточный матрикс [253, 254]. В нашем исследовании также наблюдалось повышение экспрессии генов гладкомышечного актина

(ACTA2, ACTG2) и ряда коллагенов (COL12A1, COL14A1, COL6A3, COL8A1) в эктопическом эндометрии, что может свидетельствовать о развитии фиброзных изменений, проходящих с участием миофибробластов.

Считается, что TGF- β является центральным про-фибротическим цитокином и играет решающую роль в развитии фиброза. Нами было показано повышение экспрессии генов представителей семейства TGF- β (TGFB2, TGFB3), а также рецептора TGF- β TGFBR2. Во время активации репаративных процессов происходит повышение секреции TGF- β , что приводит к клеточной трансдифференцировке в миофибробласты и аномальному, неконтролируемому накоплению внеклеточного матрикса [255].

После высвобождения TGF- β связывается с TGF- β рецептором II (TGFBR2), что приводит к формированию комплекса из белков семейства Smad, который может транслоцироваться в ядро для модификации, активации или репрессии транскрипции целевых генов [256]. Сигнализация TGF- β /Smad играет важную роль в фиброгенезе. Исследования показывают, что фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), митоген-активированный протеин киназы (MAPK), киназы p38 и c-Jun (JNK) принимают участие в данном сигнальном пути. Кроме этого, TGF- β имеет перекрестное взаимодействие с другими путями, включая CTGF (фактор роста соединительной ткани) и Wnt сигнальные пути [257]. Анализ генов-мишеней микроРНК и ассоциированных с ними путей показал их участие в сигнальных каскадах запускаемых TGF- β . Также отмечалось повышение экспрессии гена рецептора BMP (bone morphogenic protein) BMPR2. BMP – это фактор роста, входящий в состав суперсемейства трансформирующих ростовых факторов и также участвующий в патогенезе фиброза [258]. Данное наблюдение может свидетельствовать о важном вкладе в регуляцию данных каскадов со стороны микроРНК. Кроме этого, было выявлено несколько путей, связанных с развитием, пролиферацией и дифференцировкой мышечных клеток, что говорит в пользу участия микроРНК в процессах трансдифференцировки миофибробластов, что способствует развитию фиброза.

При фиброзе эндометрия сигнализация TGF- β значительно увеличивается в ткани эндометрия как в моделях на животных, так и у пациентов, что считается основной причиной образования фиброза [259, 260]. Так Ни и соавторы показали, что экспрессия TGF- β , CTGF, α -SMA и коллагена I и III была повышена в тканях эндометрия при моделировании фиброза у мышей.

Фактор роста соединительной ткани (CTGF) играет важную роль в образовании соединительной ткани, кровеносных сосудов и костей. Он также известен как профибротический фактор, который, как предполагается, является нижестоящим эффектором пути TGF- β и участвует в развитии фиброза [261, 262]. Снижение уровня экспрессии CTGF антисмысловыми мРНК или антителами может уменьшить фиброгенез за счет снижения синтеза коллагена I, индуцированного сигналом TGF- β [263]. В исследовании Хие и соавторов [264], было показано повышение экспрессии TGF- β и CTGF в ткани эндометрия у больных внутриматочным спаечным процессом. Авторы также показали, что пациенты с более высоким уровнем экспрессии TGF- β и CTGF имели более высокий риск рецидива, чем пациенты с более низким уровнем экспрессии, что указывает на возможность использования данных маркеров в качестве потенциальных предикторов рецидива фиброза эндометрия.

Секретируемые белки Wnt, состоящие из высококонсервированных гликопротеинов, а также их клеточные рецепторы, известные как Frizzled (FZD) рецепторы, играют ведущую роль в эмбриогенезе, пролиферации и дифференцировке клеток и эпителиально-мезенхимальном переходе [265]. Недавние исследования показали, что сигнализация Wnt влияет на формирование фиброза, а модулирование сигналов Wnt-каскада может замедлять этот процесс. Стимуляция Wnt сигнализации приводит к активации миофибробластов, совместно с TGF- β каскадом запуская фиброзную трансформацию [266, 267].

Гены, формирующие Wnt каскад в клетках женских репродуктивных органах, чувствительны к изменению циркулирующих половых гормонов. В эндометрии человека наблюдалось специфическое изменение экспрессии генов

Wnt-каскада в зависимости от фазы цикла, а также было показано влияние данного пути клеточной сигнализации на процессы мезенхимально-эпителиальной коммуникации при дифференцировке эндометрия и имплантации эмбрионов [268]. Таким образом, изменение сигнализации по данному пути может быть одной из причин развития бесплодия при эндометриозе. Повышение экспрессии CTGF и ряда представителей Wnt-сигнального пути в очагах эндометриоза было также выявлено в нашем исследовании.

Компоненты Wnt-сигнального пути также являются мишенями дифференциально экспрессированных микроРНК, обнаруженных при транскриптомном анализе в данной работе.

Еще одной сигнальной молекулой участвующей в процессах регенерации и фиброзирования тканей является тромбоцитарный фактор роста (PDGF) [269]. В патогенезе фиброзных заболеваний сигнализация PDGF обеспечивает выживание, пролиферацию и миграцию миофибробластов [270]. PDGF семейство включает четыре различные изоформы: PDGF-B, PDGF-C, и PDGF-D [271]. Проведенный в данной работе транскриптомный анализ экспрессии генов выявил повышение экспрессии PDGF-C и PDGF-D в эктопическом эндометрии. PDGF лиганды связываются со специфическими рецепторами (PDGFR), в частности на миофибробластах, после чего происходит активация PI3K, Ras и MAPK сигнальных каскадов, способствующих пролиферации, миграции, адгезии клеток и отложению коллагена [272]. PDGF секретируется в ответ на повреждение ткани для стимуляции процессов заживления и его местное применение повышает митотическую активность фибробластов и гладкомышечных клеток, а также стимулирует хемотаксис макрофагов и нейтрофилов, приводя к повышенному образованию грануляционной ткани [273]. В работе Tao et al. [274] было показано повышение содержания PDGF-B в образцах тканей внутриматочных спаек, что указывает на роль PDGF в формировании фиброзных изменений при спаечном процессе. В патологическом эндометрии, где происходит хроническое воспаление и

сопутствующее повреждение ткани данный фактор, по-видимому, играет ключевую роль в процессах воспалительной инфильтрации и отложению фибриллярного коллагена. В этой связи данная сигнальная система может быть перспективной мишенью терапевтического воздействия для торможения спаечного процесса при эндометриозе.

В научной литературе, посвященной патогенезу эндометриоза, показаны изменения экспрессии различных генов, кодирующих транскрипционные факторы, молекулы клеточной адгезии, ферменты тканевого ремоделинга, цитокины, рецепторы и ферменты метаболизма стероидных гормонов. Однако проведенный анализ публикаций показал, что для многих описанных нами генов, отсутствует информация об экспрессии кодируемых ими белков в очагах эндометриоза. Основной массив данных о взаимосвязи между белковыми продуктами проанализированных генов и сигнальными путями, в которых они участвуют, получен при исследовании опухолевых или эмбриональных клеток.

Таким образом, следует отметить о необходимости дальнейших исследований с использованием «омиксных» и биоинформационных технологий, направленных на определение белковых продуктов генов, их участия в сигнальных путях и биологических процессах в клетках и тканях эктопического и эутопического эндометрия, для составления относительно полного интерактома сигнальных путей, участвующих в патогенезе эндометриоза, и выявления возможных терапевтических мишеней для лечения этого заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Для женщин с ретроцервикальным эндометриозом характерна высокая частота болевого синдрома (тазовые боли – 83,3%, дисменорея -46,7%, диспареуния - 39,1%, дисхезия - 7,05%), заболеваний желудочно-кишечного тракта (у 45%) и соматоформная дисфункция вегетативной нервной системы (у 19,1%). Клинические проявления ретроцервикального эндометриоза зависят от степени распространения и вовлечения органов малого таза в патологический процесс, однако бессимптомное течение заболевания характерно для 16,7% пациенток.

2. Выявленные морфологические особенности РЦЭ в сочетании с эндометриозом толстой кишки, яичников и миомой матки (нарушение гистологической архитектоники стенки кишки, циклические изменения выстилающего слоя капсулы эндометриоидной кисты, деформация миометрия миоматозными узлами) обуславливают клинический симптомокомплекс (тянущие боли в нижних отделах живота, диспареунию, вздутие живота и послабление стула во время менструации, менометроррагию) у данных пациенток.

3. Наибольшую диагностическую ценность МРТ и ТВУЗИ имеют при выявлении ретроцервикального эндометриоза с распространением на стенку кишки – 98,6% (чувствительность) и 87,6% (специфичность) или поражением яичников с формированием эндометриоидных кистом – 97,4% (чувствительность) и 95% (специфичность). Наименьшей чувствительностью и специфичностью обладают при сочетании миомы матки и ретроцервикального эндометриоза (36,6% и 89,6%, соответственно). Диагностическая ценность колоноскопии для выявления эндометриоза кишки составляет– 76,7%, специфичность – 56,87%.

4. Выявлена дисрегуляция экспрессии микроРНК в очагах инфильтративного ретроцервикального эндометриоза относительно эутопического эндометрия в парных и непарных группах сравнения. В

результате биоинформационного анализа выявлены пути внутриклеточной сигнализации, свидетельствующие об участии дифференциально экспрессированных микроРНК и их потенциальных генов-мишеней в патогенетических процессах при эндометриозе.

5. Показаны отличия в экспрессии микроРНК в эутопическом эндометрии больных эндометриозом и пациенто без данного заболевания. Выявлены микроРНК hsa-miR-143-3p и hsa-miR-200a-3p, которые могут быть использованы в качестве маркеров эндометриоза.

6. Дифференциально экспрессированные гены в эктопическом и эутопическом эндометрии при эндометриозе входят в состав патогенетических путей внутриклеточной сигнализации, участвующих в процессах клеточного деления, морфогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода и тканевого воспаления. Выявленные в результате анализа дифференциально экспрессированные гены в эутопическом эндометрии могут быть предложены в качестве потенциальных маркеров эндометриоза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенткам с жалобами на тазовые боли, диспареунию и аномальные маточные кровотечения и отягощенным соматическим анамнезом (заболевания желудочно-кишечного тракта и соматоформная дисфункция вегетативной нервной системы) показано последовательное выполнение ТВУЗИ, МРТ с контрастированием и колоноскопия для уточнения локализации и распространения ретроцервикального эндометриоза. Лапароскопия должна быть завершающим методом исследования у этих пациенток.

2. При малосимптомном течении эндометриоза для диагностики пролиферативного заболевания матки показано проведение исследования экспрессии miR-143-3p в эндометрии.

3. Полученные данные статистической обработки с использованием поправки на множественные сравнения свидетельствуют об отсутствии достоверных изменений состава микроРНК в плазме крови при эндометриозе, поэтому не рекомендованы для включения в алгоритм обследования пациенток с ретроцервикальным эндометриозом

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ГИЭ - глубокий инфильтративный эндометриоз
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- МРТ – магнитно–резонансная томография
- НГЭ - наружный генитальный эндометриоз
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- РЦЭ - ретроцервикальный эндометриоз
- ТВУЗИ - трансвагинальная эхография
- ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
- АСТ – гены гладкомышечного актина
- COL – коллаген
- СОХ-2 – циклооксигеназы
- CTGF - фактор роста соединительной ткани
- СYP2J2 – эпоксигеназа
- Down - гены с пониженной экспрессией
- E-cadherin - эпителиальный кадгерин
- EGFR - ген рецептора эпидермального фактора
- Eu - эутопический эндометрий
- Ecto - эктопический эндометрий
- EMT - процесс эпителиально-мезенхимального перехода (epithelial-to-mesenchymal transition)
- НОХА, НОХВ, НОХС - подмножество генов гомеобоксных
- HTR1D - серотониновый 1D рецептор
- IL – интерлейкины
- IGF2 - инсулиноподобный фактор роста
- LET-7b, let-7d и let-7F - предшественник микроРНК
- MTOR - мишень рапамицина
- МАРК - митоген-активированный протеин киназы
- МАРК - митоген-активированный протеин киназы

Norm – нормальный эндометрий

NOTCH1 – трансмембранный рецепторный белок человека (Notch homolog 1 translocation-associated)

PDGF - тромбоцитарный фактор роста

PGE2 – простагландин E2

PI3K - фосфатидилинозитол-3-киназы

PI3K - фосфатидилинозитол-3-киназы

TGF- β - трансформирующий ростовой фактор бета

TGF- β - трансформирующий ростовой фактор бета

TIMPs - тканевый ингибитор металлопротеиназ

TNF- α - фактор некроза опухоли

Total - количество дифференциально экспрессированных генов,

Up - гены с повышенной экспрессией

VEGF - (vascular endothelial growth factor) сосудистый эндотелиальный фактор роста

VEGFR – рецепторы васкулярно-эндотелиального фактора роста

Wnt - один из внутриклеточных сигнальных путей животных, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку клеток и развитие злокачественных опухолей

Wnt - один из внутриклеточных сигнальных путей животных, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку клеток и развитие злокачественных опухолей

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация / Л.В. Адамян [и др.]. – М., 2013. – 65 с.
2. Challenges in the development of novel therapeutic strategies for treatment of endometriosis / A. Vanhie [et al.] // Expert opinion on therapeutic targets. – 2016. – Vol. 20 –№ 5. – P. 593–600.
3. Ранняя диагностика наружного генитального эндометриоза и его рецидивов путем определения липидного профиля методом масс-спектрометрии: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01/ Борисова Анна Валерьевна – М., 2017. – 192 с.
4. Глубокий инфильтративный эндометриоз: послеоперационные рецидивы и возможные пути их профилактики / Г.Е. Чернуха [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – №8. – С. 31-38.
5. Ata, B. Which is worse? Comparison of ART outcome between women with primary or recurrent endometriomas / B. Ata [et al.] // Hum Reprod. – 2017. – Vol. 32 (7). – P. 1427-1431.
6. Falcone, T. Clinical Management of Endometriosis / T. Falcone, R. Flyckt // Obstet Gynecol. – 2018. - №131 (3). – P.557-571.
7. Sampson, J.A. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity / J.A. Sampson // Am. J. Obstet Gynecol. – 1927. – Vol. 14. – P. 422-469.
8. Mounsey, A.L. Diagnosis and management of endometriosis / A.L. Mounsey, A. Wilgus, D.C. Slawson // Am. Fam. Phys. - 2006. – Vol. 74. - P. 594–600.
9. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация / Л.В. Адамян [и др.] // Проблемы репродукции. - 2017. - Т. 23, № 6. - С. 553-605.
10. Эндометриоз и рак яичников. Есть ли взаимосвязь? Общие патогенетические черты рака яичников и эндометриоза / М.М. Сонова [и др.] // Онкогинекология. - 2013. - № 4. - С. 30-40.

11. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis / S. Kennedy [et al.] // *Hum. Reprod.* - 2005. - №20. - P. 2698–2704.
12. The direct and indirect costs associated with endometriosis: a systematic literature review / A.M. Soliman [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2016. – Vol. 31, № 4. – P. 712–722.
13. Классификации эндометриоза / Э.К. Айламазян [и др.] // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2017. – Т.66, №2. – С. 77-92.
14. Paка, С. Predictive factors and treatment of recurrence of endometriosis / С. Paка, J. Miller, С. Nezhаt // *Minerva Ginecol.* – 2013. – Vol. 65 (2). - P.10511.
15. Pandey, S. Medical therapy for preventing recurrent endometriosis after conservative surgery: a cost-effectiveness analysis: Cost-effectiveness in recurrent endometriosis prevention / S. Pandey, R. Tyagi // *Br. J. Obstet. Gynecol.* - 2018. – Vol. 125 (4). – P. 503-504.
16. The unexpected ovarian malignancy found during operative laparoscopy: incidence, management, and implications for prognosis / L. Muzii [et al.] // *J. Minim. Invasive Gynecol.* - 2005. – Vol. 12. – P. 81-89.
17. Variation in antimullerian hormone concentration during the menstrual cycle may change the clinical classification of the ovarian response / N. Hadlow [et al.] // *Fertil Steril.* – 2013. – Vol. 99. – P. 1791–1797.
18. Vercellini, P. Repetitive surgery for recurrent symptomatic endometriosis: what to do? / P. Vercellini, G. Barbara, A. Abbiati // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2009. – Vol. 146. – P. 15–21.
19. Evans, M.B. Fertility and Endometriosis / M.B. Evans, A.H. Decherney // *Clin. Obstet. Gynecol.* - 2017. – Vol. 60 (3). – P. 497-502.
20. Signorile, P.G. Looking for an effective and non-invasive diagnostic test for endometriosis: where are we? / P.G. Signorile, A. Baldi // *Ann. Transl. Med.* – 2018. - Vol. 6 (Suppl. 2). – P. S106.
21. Bulun, S.E. Endometriosis / S.E. Bulun // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360. – P. 268-279.

22. Ballard, K. What's the delay? A qualitative study of women's experience of reaching a diagnosis of endometriosis / K. Ballard, K. Lowton, J.T. Wright // *Fertil. Steril.* – 2006. – Vol. 86. – P. 1296-1301.

23. Why we need a noninvasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis with high sensitivity / T.M. D'Hooghe [et al.] // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2006. – Vol. 62. – P. 136-138.

24. Noninvasive diagnosis of endometriosis: Review of current peripheral blood and endometrial biomarkers / D.F. Flores [et al.] // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol. 50. - 72-83.

25. Endometrial biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis [Electronic resource] / D. Gupta [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* -2016. - №4. - CD012165.

26. MicroRNA-488 inhibits endometrial glandular epithelial cell proliferation, migration, and invasion in endometriosis mice via Wnt by inhibiting FZD7 [Electronic resource] / H. Zhu [et al.] // *J. Cell Mol. Med.* – 2019. - Feb 7. doi: 10.1111/jcmm.14078.

27. Plasma microRNAs display limited potential as diagnostic tools for endometriosis [Electronic resource] / V. Nisenblat [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 2019. - Jan 3. - doi: 10.1210/jc.2018-01464.

28. Hu Z, Mamillapalli R, Taylor HS. Increased circulating miR-370-3p regulates Steroidogenic Factor 1 in Endometriosis [Electronic resource] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2018. - Dec 21. - doi: 10.1152/ajpendo.00244.2018.

29. MiR-381 regulates cell motility, growth and colony formation through PIK3CA in endometriosis-associated clear cell and endometrioid ovarian cancer / C.Y. Hsu [et al.] // *Oncol. Rep.* – 2018. – Vol. 40 (6). – P. 3734-3742.

30. Exosome-mediated microRNA-138 and vascular endothelial growth factor in endometriosis through inflammation and apoptosis via the nuclear factor- κ B signaling pathway / A. Zhang [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2019. - Vol. 43 (1). – P. 358-370.

31. The Expression of microRNA-221 in Endometriosis and Its Impact on Endometrial Stromal Cells / X.H. Du [et al.] // *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2018. – Bd. 49 (4). – P. 546-550.
32. microRNA Let-7b: A Novel treatment for endometriosis / C. Sahin [et al.] // *J. Cell Mol. Med.* – 2018. – Vol. 22 (11). – P. 5346-5353.
33. MicroRNA expression profile in endometriosis: its relation to angiogenesis and fibrinolytic factors / A. Braza-Boïls [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2014. – Vol. 29 (5). – P. 978-988.
34. Hwang HW. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis / H.W. Hwang, J.T. Mendell // *Br. J. Cancer.* – 2006. – Vol. 94. – P. 776-780.
35. Non-coding RNAs: epigenetic regulators of bone development and homeostasis / M.Q. Hassan [et al.] // *Bone.* – 2015. – Vol. 81. – P. 746-756.
36. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b / D. Ti [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2015. – Vol. 13. – P. 308.
37. Teague, E.M. The role of microRNAs in endometriosis and associated reproductive conditions / E.M. Teague, C.G. Print, M.L. Hull // *Hum. Reprod. Update.* – 2010. – Vol. 16. – P. 142-165.
38. Sourial, S. Theories on the pathogenesis of endometriosis [Electronic resource] / S. Sourial, N. Tempest, D.K. Hapangama // *Int. J. Reprod. Med.* – 2014. - doi: 10.1155/2014/179515.
39. Clement, P. The pathology of endometriosis: a survey of the many faces of a common disease emphasizing diagnostic pitfalls and unusual and newly appreciated aspects / P. Clement // *Advances in anatomic pathology.* - 2007. – Vol. 4 (14). - P. 241–260.
40. Endometriosis: diagnosis and management / N. Leyland [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. (Canada)* – 2010. – Vol. 32 (7). – P. 1-28.
41. Burney, R.O. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis / R. Burney, L. Giudice // *Fertil. Steril.* - 2012. – Vol. 3 (98). - P. 511–519.

42. Performance of ultrasound-based endometriosis staging system (UBESS) for predicting level of complexity of laparoscopic surgery for endometriosis / U. Menakaya [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* - 2016. – Vol. 6 (48). - P. 786–795.
43. Malignant transformation of ovarian endometriosis / M. Nishida [et al.] // *Gynecol. Obstet. Invest.* - 2000. – Vol. 1 (50). - P. 18–25.
44. Endometriosis on quality life and work productivity: a multicenter study across ten countries / G.D. Adamson [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2011. - Vol. 96 (2). - P. 366-373.
45. Priorities for endometriosis research: Recommendations from an international consensus workshop / P.A. Rogers [et al.] // *Reprod Sci.* – 2009. – Vol. 16 (4). – P. 335–346.
46. Fuldeore, M.J. Prevalence and Symptomatic Burden of Diagnosed Endometriosis in the United States: National Estimates from a Cross-Sectional Survey of 59,411 Women. / M.J.Fuldeore, A.M.Soliman // *Gynecol. Obstet. Invest.* - 2017. – Vol. 5 (82). - P. 453–461.
47. Cramer, D.W. The epidemiology of endometriosis / D. Cramer, S. Missmer // *Ann. NY Acad. Sci.* - 2002. – Vol. 955 (11). – P. 22–26.
48. Nnoaham, K.E. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries / K.E. Nnoaham, L. Hummelshoj, P. Webster // *Fertil. Steril.* - 2011. - Vol. 96 (2). - P. 366–373.
49. Vercellini, P. Endometriosis: pathogenesis and treatment / P. Vercellini, P. Viganò, E. Somigliana // *Nat Rev Endocrinol.* - 2014. - Vol. 10 (5). - P. 261-275.
50. Адамян, Л.В. Молекулярные аспекты патогенеза эндометриоза. / Адамян Л.В., Азнаурова Я.Б. // *Проблемы репродукции.* – 2015. – Т. 21 (2). – С. 67-77.
51. Endométriose et infertilité / P. Collinet [et al.] // *Gynecol. Obstet. Fertil.* - 2006. – Vol. 5 (34). - P. 379–384
52. Giudice, L.C Endometriosis: science and practice / L.C. Giudice, J.L.H. Evers, D.L. Healy. – London: Wiley-Blackwell, 2012. – 600 p.

53. Raffi, F The impact of excision of ovarian endometrioma on ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis / F. Raffi, M. Metwally, S. Amer // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 97 (9). – P. 3146-3154.
54. Pathogenetic Mechanisms of Deep Infiltrating Endometriosis / C. Tosti [et al.] // *Reprod Sci.* – 2015. – Vol. 22 (9). – P. 1053-1059.
55. Brosens, I. The typical ovarian endometrioma has a surface origin. Letter to the Editor / I. Brosens // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94, № 5. – P. 73.
56. Nuclear factor-kappa B is constitutively activated in peritoneal endometriosis / R.R. Gonzalez [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 13. – P. 503-509.
57. Endometriosis lesions that compromise the rectum deeper than the inner muscularis layer have more than 40% of the circumference of the rectum affected by the disease / Ph.R. Koninckx [et al.] // *J. Min. Inv. Gynecol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 774-775.
58. ESHRE guideline: management of women with endometriosis / G.J. Dunselman [et al.] // *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* – 2014. – Vol. 29. – P. 400–412.
59. Treatment of pain associated with deep endometriosis: alternatives and evidence / S. Ferrero [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2015. – Vol. 104. – P. 771-792.
60. The direct and indirect costs associated with endometriosis: a systematic literature review / A.M. Soliman [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2016. – Vol. 31, № 4. – P. 712–722.
61. The significant effect of endometriosis on physical, mental and social wellbeing: results from an international cross-sectional survey / A.A. De Graaff [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 28, № 10. – P. 2677–2685.
62. Ito, F. Role of oxidative stress in epigenetic modification in endometriosis / F. Ito, Y.Yamada, A. Shigemitsu // *Reprod. Sci.* – 2017. -Vol. 60. – P. 111-113.
63. Prevention of the recurrence of symptom and lesions after conservative surgery for endometriosis / K. Koga [et al.] // *Fertil Steril.* - 2015. – Vol. 104 (4). – P. 793-801.

64. Kobayashi, H. Potential scenarios leading to ovarian cancer arising from endometriosis / H. Kobayashi // *Redox Report*. - 2016. - Vol. 21, № 3. - P. 119–126.
65. Post-operative endometriosis recurrence: a plea for prevention based on pathogenetic, epidemiological and clinical evidence / P. Vercellini [et al.] // *Reprod. Biomed. Online*. – 2010. – Vol. 21. – P. 259-265.
66. Cullen, T.S. Adeno-myoma of the round ligament / T.S. Cullen // *Johns Hopkins Hosp. Bull.* – 1896. – Vol. 7. – P. 112–114.
67. Meyer, R. Zur frage der Urnieren-genese van Adenomyomen / R. Meyer // *Zentralbl. Gynakol.* – 1923. – Bd. 15. – S. 577–587.
68. Gruenwald, P. Origin of endometriosis from the mesenchyme of the celomic walls / P. Gruenwald // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1942. – Vol. 44. – P. 470–474.
69. Gordts, S. Pathogenesis of deep endometriosis / S. Gordts, P. Koninckx, I. Brosens // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 108 (6). – P. 872-885.
70. Адамян, Л.В. Эндометриозы: руководство для врачей / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н. Андреева. - М.: Медицина, 2006. - Изд. 2-е, перераб. и доп. – 416 с.
71. Sampson, J.A. Heterotopic or misplaced endometrial tissue / J.A. Sampson // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1925. – Vol. 10. – P. 649–664.
72. Ищенко, А.И. Эндометриоз : диагностика и лечение / А.И. Ищенко, Е.А. Кудрина. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 104 с.
73. Особенности продукции цитокинов иммунокомпетентными клетками перитональной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом / Г.Т. Сухих [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2004. – Т. 137, № 6. – С. 646-649.
74. Bergqvist, A. Steroid receptors in endometriosis / A. Bergqvist // *Modern approaches to endometriosis* / Ed. E. Thomas, J. Rock. – London: Dordrecht-Boston, 1991. – P. 33-55.
75. Frey, C.H. The familian occurrence of endometriosis / C.H. Frey // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1957. – Vol. 73. – P. 418.

76. Koninckx, Ph.R. Is mild endometriosis a condition occurring intermittently in all women? / Ph.R. Koninckx // Hum. Reprod. – 1994. – Vol. 9, № 12. – P. 2202-2205.

77. Классификация эндометриоза / Э.К. Айламазян [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66, № 2. – С. 77–92.

78. Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain / P.R. Koninckx [et al.] // Fertil. Steril. – 1991. – Vol. 55 (4). – P. 759-765.

79. Anatomical distribution of deeply infiltrating endometriosis: surgical implications and proposition for a classification / C. Chapron [et al.] // Hum. Reprod. – 2003. – Vol. 18 (1). – P. 157-161.

80. ENZIAN-score, a classification of deep infiltrating endometriosis / F. Tuttlies [et al.] // Zentralbl. Gynakol. – 2005. – Vol. 127. – P. 275-281.

81. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision: risk factors and prevention / N. Ouchi [et al.] // J. Obstet. Gynaecol. Res. - 2014. – Vol. 1(40). - P. 230–236.

82. Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved? / T. D'Hooghe [et al.] // Sem. Reprod. Med. - 2003. – Vol. 2 (21). - P. 243–254.

83. Тихончук, Е.Ю. Молекулярно-биологические изменения эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом / Е.Ю. Тихончук, А.В. Асатурова, Л.В. Адамян // Акушерство и гинекология. – 2016. – Vol. 11. – С. 42-48.

84. Surgical versus medical treatment for endometriosis-associated severe deep dyspareunia: I. Effect on pain during intercourse and patient satisfaction / P. Vercellini [et al.] // Hum. Reprod. - 2012. – Vol. 12 (27). - P. 3450–3459.

85. Deeply infiltrating endometriosis: evaluation of retro-cervical space on MRI after vaginal opacification / V. Fiaschetti [et al.] // Eur. J. Radiol. - 2012. – Vol. 11 (81). - P. 3638–3645.

86. Comparison of the clinical value of CA 19-9 versus CA 125 for the diagnosis of endometriosis / Z. Kurdoglu [et al.] // *Fertil. Steril.* - 2009. – Vol. 5 (92). - P. 1761–1763.

87. Can magnetic resonance imaging at 3.0-Tesla reliably detect patients with endometriosis? Initial results / M. Thomeer [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* - 2014. – Vol. 4 (40). - P. 1051–1058.

88. Endometrial stromal cells and immune cell populations within lymph nodes in a nonhuman primate model of endometriosis / A.J. Hey-Cunningham [et al.] // *Reprod. Sciences.* - 2011. – Vol. 8 (18). - P. 747–754.

89. Clinical prediction of deeply infiltrating endometriosis before surgery: is it feasible? A review of the literature / M. Carneiro [et al.] // *BioMed Res. Int.* - 2013. – Vol. 13. - P. 564-573.

90. Clinical presentation of endometriosis identified at interval laparoscopic tubal sterilization: Prospective series of 465 cases / M. Tissot [et al.] // *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* - 2017. – Vol. 8 (46). - P. 647–650.

91. Endometriosis still a challenge / C. Mehedintu [et al.] // *J. Med. Life.* - 2014. – Vol. 3 (7). - P. 349–357.

92. Accuracy of transvaginal ultrasound for diagnosis of deep endometriosis in the rectosigmoid: systematic review and meta-analysis / S. Guerriero [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* - 2016. – Vol. 3 (47). - P. 281–289.

93. Transvaginal sonography vs. clinical examination in the preoperative diagnosis of deep infiltrating endometriosis / G. Hudelist [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 37 (4). – P. 480-487.

94. Diagnostic accuracy of transvaginal sonography for deep pelvic endometriosis / M. Bazot [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 24 (2). – P. 180-185.

95. The use of modified virtual colonoscopy to structure a descriptive imaging classification with implied severity for rectogenital and disseminated endometriosis. / J. van der Wat [et al.] // *Minim. Invest. Gynecol.* – 2013. – Vol. 20 (5). – P. 543-546.

96. Диагностическая роль микроРНК как биологических маркеров наружного (ретроцервикального) эндометриоза / И.К. Альмова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2017. - № 8. – С. 34-40.
97. Clarke-Pearson, D.L. Complications of hysterectomy / D.L. Clarke-Pearson, E.J. Geller // *Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 121 (3). – P. 654-673.
98. Role of microRNAs in gynecological pathology / J. Gilabert-Estelles [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 19. – P. 2406–2413.
99. MiRBase: tools for microRNA genomics / S. Griffiths-Jones [et al.] // *Nucleic Acids Research*. - 2008. - Vol. 36. - P. 154- 158.
100. Evidence for the biogenesis of more than 1,000 novel human microRNAs / M. R. Friedlander [et al.] // *Genome Biology*. - 2014. - Vol. 15, № 4.-P. 57.
101. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs / L.P. Lim [et al.] // *Nature*. - 2005. - Vol. 433, № 7027.- P. 769- 773.
102. Latronico, M.V. MicroRNAs and cardiac pathology / M.V. Latronico, G. Condorelli // *Nature Reviews Cardiology*. - 2009.- Vol. 6. - P. 419-429.
103. Lujambio, A. The microcosmos of cancer / A. Lujambio, S. W. Lowe // *Nature*. - 2012. - Vol. 482. - P. 347- 355.
104. Szabo, G. MicroRNAs in liver disease / G. Szabo, S. Bala // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* - 2013. - Vol. 10, № 9. - P. 542- 552.
105. Panwar, B. MiRmine: a database of human miRNA expression profiles / B. Panwar, G.S. Omenn, Y. Guan // *Bioinformatics*. – 2017. – Vol. 15. – P. 1554-1560.
106. MiRGator v3.0: a microRNA portal for deep sequencing, expression profiling and mRNA targeting / I. Cho [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2013. – Vol. 41. – P. 252-257.
107. Distribution of miRNA expression across human tissues / P. Ludwig [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2016. – Vol. 44. – P. 3865-3877.

108. Hull, M.L. Tissue and circulating microRNA influence reproductive function in endometrial disease / M.L. Hull, V. Nisenblat // *Reprod. BioMed. Online.* – 2013. – Vol. 27. – P. 515-529.

109. Ibrahim, S.A. MicroRNA-dependent targeting of the extracellular matrix as a mechanism of regulating cell behavior / S.A. Ibrahim, H. Hassan, M. Götte // *Biochim. Biophys. Acta,* - 2014. – Vol. 1840. – P. 2609-2620.

110. Yang, L. Small RNA molecules in endometriosis: pathogenesis and therapeutic aspect / L. Yang, H.Y. Liu // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2014. – Vol. 183. - P. 83-88.

111. MiRNAs regulation and its role as biomarkers in endometriosis / J. Mari-Alexandre [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17 (1).

112. High-throughput sequencing approach uncovers the miRNome of peritoneal endometriotic lesions and adjacent healthy tissues / M. Saare [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – P. e112630.

113. Downregulation of miR-183 inhibits apoptosis and enhances the invasive potential of endometrial stromal cells in endometriosis / X.Y. Shi [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2014. – Vol. 33. – P. 59-67.

114. Microarray analysis of microRNA deregulation and angiogenesis-related proteins in endometriosis / R. Yang [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2016. – Vol. 15.

115. MicroRNA expression profile in endometriosis: its relation to angiogenesis and fibrinolytic factors / J. Braza-Boïls [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2014. – Vol. 29. - P. 978-988.

116. Yang, Y.-M. Epithelial-to-mesenchymal transition in the development of endometriosis [Electronic resource] // *Oncotarget.* – 2017. - doi.10.18632/oncotarget.16472

117. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2 / S.-M.M. Park [et al.] // *Genes Dev.* – 2008. – Vol. 22. - P. 894-907.

118. An autocrine TGF-beta/ZEB/miR-200 signaling network regulates establishment and maintenance of epithelial-mesenchymal transition / P.A. Gregory [et al.] // *Mol. Biol. Cell.* – 2011. – Vol. 22. – P. 1686-1698.

119. Lessons from miR-143/145: the importance of cell-type localization of miRNAs / O.A. Kent [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2014. – Vol. 42. - P. 7528-7538.

120. MicroRNA miR-145 inhibits proliferation, invasiveness, and stem cell phenotype of an in vitro endometriosis model by targeting multiple cytoskeletal elements and pluripotency factors / M. Adammek [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 99. – P. 1346–1355.

121. Kachgal, S. The dual roles of homeobox genes in vascularization and wound healing / S. Kachgal, K.A. Mace, N.J. Boudreau // *Cell Adhes. Migr.* – 2012. – Vol. 6. - P. 457-470.

122. Dai, L. DiMiR-199a attenuates endometrial stromal cell invasiveness through suppression of the IKK β /NF- κ B pathway and reduced interleukin-8 expression / L. Dai, L. Gu, W. Di // *Mol. Hum. Reprod.* – 2012. – Vol. 18. – P. 136-145.

123. Expression of miR-126 and Crk in endometriosis: miR-126 may affect the progression of endometriosis by regulating Crk expression / S. Liu [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2012. – Vol. 285. - P. 1065-1072.

124. MicroRNA23a and MicroRNA23b Deregulation Derepresses SF-1 and Upregulates Estrogen Signaling in Ovarian Endometriosis / L. Shen [et al.] // *Gynecol. Obstet.* – 2013. – Vol. 98. – P. 1575-1582.

125. CaimiR-29c is downregulated in the ectopic endometrium and exerts its effects on endometrial cell proliferation, apoptosis and invasion by targeting c-Jun / M. Long [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2015. – Vol. 35. - P. 1119-1125.

126. MiR-202 promotes endometriosis by regulating SOX6 expression / D. Zhang [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8. – P. 17757-17764.

127. The differential expression of microRNA-143,145 in endometriosis / B. Zheng [et al.] // *Iran. J. Reprod. Med.* – 2014. – Vol. 12. – P. 555-560.

128. Defining future directions for endometriosis research: workshop report from the 2011 World Congress of Endometriosis in Montpellier, France / P. Rogers [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2013. – Vol. 20 (5). - P. 483–499.

129. miRNA signature and Dicer requirement during human endometrial stromal decidualization in vitro / C. Estella [et al.] // *PLoS One.* – 2012. –Vol. 7. – P. e41080.

130. MicroRNAs miR-30b, miR-30d, and miR-494 regulate human endometrial receptivity / S. Altmäe [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2013. – Vol. 20. – P. 308–317.

131. Update on Biomarkers for the Detection of Endometriosis [Electronic resource] / A. Fassbender [et al.] // *Biomed. Res. Int.* 2015. - doi:10.1155/2015/130854.

132. MicroRNAs expression profiling of eutopic proliferative endometrium in women with ovarian endometriosis / P. Laudanski [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 11. – P. 78.

133. MicroRNA expression profile in endometriosis: its relation to angiogenesis and fibrinolytic factors / J. Braza-Boïls [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2014. - Vol. 29, № 5. - P. 978–988.

134. Circulating microRNAs identified in a genome-wide serum microRNA expression analysis as noninvasive biomarkers for endometriosis / W.T. Wang [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 98. – P. 281–289.

135. Plasma miR-17-5p, miR-20a and miR-22 are down-regulated in women with endometriosis / S.-Z. Jia [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2013. - Vol. 28, № 2. - P. 322–330.

136. Meijer, H.A. Regulation of miRNA strand selection: follow the leader? / H.A. Meijer, E.M. Smith, M. Bushell // *Biochem. Soc. Trans.* – 2014. – Vol. 42. - P. 1135-1140.

137. Circulating microRNA profile throughout the menstrual cycle / K. Rekker [et al.] // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol. 8. – P. 1–6.

138. Адамян, Л.В. Генитальный эндометриоз: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение: методическое пособие для врачей / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева. – М., 2001. – 27 с.
139. Адамян, Л.В. Современные принципы диагностики и лечения эндометриоза / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева // Гинекология. – 2005. – № 2. – С. 35-42.
140. Адамян, Л.В. Генитальный эндометриоз. Современный взгляд на проблему / Л.В. Адамян, С.А. Гаспарян. – Ставрополь, 2004. –С. 228.
141. The burden of endometriosis : costs and quality of life of women with endometriosis and treated in referral centres / S. Simoens [et al.] // Hum. Reprod. – 2012. – Vol. 27, № 5. – P. 1292–1299.
142. Ultrasound findings in extragenital endometriosis / Y. Dong [et al.] // J. Ultrason. – 2018. – Vol. 18 (74). – P. 247-254.
143. Endometriosis within the sigmoid colon/extragenital endometriosis / T. Acar [et al.] // Ulus Cerrahi Derg. – 2015. – Bd. 31 (4). – P. 250-252.
144. Баскаков, В.П. Эндометриоидная болезнь / В.П. Баскаков, Ю.В. Цвелев, Е.Ф. Кира. - СПб. : Издательство Н - Л, 2002. – 452 с.
145. Fraser, I.S. Mysteries of endometriosis pain : Chien-Tien Hsu Memorial Lecture 2009 / I.S. Fraser // J. Obstet. Gynaecol. Res. – 2010. – Vol. 36 (1). – P. 1-10.
146. Яроцкая, Е.Л. Особенности тактики ведения гинекологических больных, страдающих тазовыми болями / Е.Л. Яроцкая, Л.В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2003. – № 3. – С. 17- 26.
147. Impact of endometriosis on quality of life and mental health: pelvic pain makes the difference / F. Facchin [et al.] // J. Psychosom. Obstet. Gynaecol. – 2015. – Vol. 36 (4). – P. 135-141.
148. Relating Chronic Pelvic Pain and Endometriosis to Signs of Sensitization and Myofascial Pain and Dysfunction / J.V. Aredo [et al.] // Semin. Reprod. Med. – 2017. – Vol. 35 (1). – P. 88-97.

149. Morotti, M. Mechanisms of pain in endometriosis / M. Morotti, K. Vincent, C.M. Becker // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 209. – P. 8-13.

150. Tanbo, T. Endometriosis-associated infertility: aspects of pathophysiological mechanisms and treatment options / T. Tanbo, P. Fedorcsak // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2017. – Vol. 96 (6). – P. 659-667.

151. Endometriosis and uterine malformations: infertility may increase severity of endometriosis / J. Boujenah [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2017. – Vol. 96 (6). – P. 702-706.

152. Комбинированное лечение (лапароскопия+диеногест) эндометриозассоциированного бесплодия / А.А. Попов [и др.] // *Проблемы репродукции.* - 2016. - Т. 22, № 4. - С. 76-80.

153. Bowel endometriosis: diagnosis and management / C. Nezhat [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol. 218 (6). – P. 549-562.

154. Bowel complications in endometriosis surgery / M.A. Oliveira [et al.] // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2016. – Vol. 35. – P. 51-62.

155. Bowel endometriosis: new challenge for gastroenterology and surgery? Three cases of endometriosis caused large bowel ileus and review of the literature / P. Lukovich [et al.] // *Orv. Hetil.* – 2016. – Vol. 157 (49). – P. 1960-1966.

156. Exacoustos, C. Ultrasound Imaging for Ovarian and Deep Infiltrating Endometriosis / C. Exacoustos, E. Zupi, E. Piccione // *Semin. Reprod Med.* – 2017. – Vol. 35 (1). – P. 5-24.

157. Reid, S. Update on the ultrasound diagnosis of deep pelvic endometriosis / S. Reid, G. Condous // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 209. – P. 50-54.

158. Van den Bosch, T. Ultrasound diagnosis of endometriosis and adenomyosis: State of the art / T. van den Bosch, D. van Schoubroeck // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol. 51. – P. 16-24.

159. Роль ультразвуковой диагностики и магнитно-резонансной томографии в диагностике эндометриоза яичников и глубоких форм

эндометриоза / Т.А. Громова, С.А. Леваков, Т.Д. Гуриев // *Акушерство, гинекология и репродукция*. - 2017. - Т. 11, № 2. - С. 50-56.

160. Transvaginal ultrasound vs magnetic resonance imaging for diagnosing deep infiltrating endometriosis: systematic review and meta-analysis / S. Guerriero [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol. 51 (5). – P. 586-595.

161. Impact of Endometriosis-Related Adhesions on Quality of Life among Infertile Women / A.I. Abd El-Kader [et al.] // *Int. J. Fertil. Steril.* – 2019. – Vol. 13 (1). – P. 72-76.

162. Preoperative Diagnosis of Intestinal Endometriosis by Magnifying Colonoscopy and Target Biopsy / J. Tomiguchi [et al.] // *Case Rep Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 11 (2). – P. 494-499.

163. Van der Wat Kaplan, J. Modified Virtual Colonoscopy in the Diagnosis and Quantification of Bowel and Disseminated Endometriosis / J van der Wat Kaplan // *Surg. Technol. Int.* – 2015. – Vol. 26. – P. 19-24.

164. Role of colonoscopy in the diagnostic work-up of bowel endometriosis. / M. Milone [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 21 (16). – P. 4997-5001.

165. New paradigms in the diagnosis and management of endometriosis / S.K. Kavoussi [et al.] // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 28 (4). – P. 267-276.

166. Liu, X. Surgical History and the Risk of Endometriosis: A Hospital-Based Case-Control Study / X. Liu, Q. Long, S.W. Guo // *Reprod. Sci.* – 2016. – Vol. 23 (9). – P. 1217-1224.

167. Адамян, Л.В. Эндометриозы / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н. Андреева. - М., Медицина, 2006.

168. Эндометриоз-ассоциированный рак яичников / С.А. Леваков [и др.] // *Опухоли женской репродуктивной системы*. - 2016. - Т. 12, № 4. - С. 47-51.

169. Adhesions and endometriosis: challenges in subfertility management : An expert opinion of the ANGEL-The ANti-Adhesions in Gynaecology Expert Panel-group / R.L. de Wilde [et al.] // *Arch. Gynecol Obstet.* – 2016. – Vol. 294 2. – P. 299-301.

170. Risk of appendiceal endometriosis among women with deep-infiltrating endometriosis / J.K. Moulder [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2017. – Vol. 139 (2). – P. 149-154.

171. Biological differences between intrinsic and extrinsic adenomyosis with coexisting deep infiltrating endometriosis / K.N. Khan [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2019. – Vol. 39 (2). – P. 343-353.

172. Endometriosis on the surface of the uterus mimicking a malignant tumor: A case report with literature review / L. Pang [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2019. – Vol. 98 (21). – P. e15741.

173. Adipocyte alterations in endometriosis: reduced numbers of stem cells and microRNA induced alterations in adipocyte metabolic gene expression / M.M. Zolbin [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 17 (1). – P. 36.

174. Deep infiltrating endometriosis of the uterus involving the urinary bladder / S. Agarwal [et al.] // *Br. Med. J. Case Rep.* – 2018. – Vol. 11(1).

175. Ahn, S.H. Biomarkers in endometriosis: challenges and opportunities / S.H. Ahn, V. Singh, C. Tayade // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 107 (3). – P. 523-532.

176. miRNAs Regulation and Its Role as Biomarkers in Endometriosis / J. Marí-Alexandre [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17 (1). – P. E93.

177. Recent insights on the genetics and epigenetics of endometriosis / B. Borghese [et al.] // *Clin. Genet.* – 2017. – Vol. 91 (2). – P. 254-264.

178. Reis, F.M. Biomarkers of Pelvic Endometriosis / F.M. Reis, C.S. Monteiro, M.M. Carneiro // *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* – 2017. – Vol. 39 (3). – P. 91-93.

179. Differential expression of micrnas between eutopic and ectopic endometrium in ovarian endometriosis / N. Filigheddu [et al.] // *J. Biomed. Biotechnol.* - 2010.

180. MicroRNA-Regulated Pathways Associated with Endometriosis / E.M.C. Ohlsson Teague [et al.] // *Mol. Endocrinol.* - 2009. – Vol. 23. – P. 265–275.

181. Graham, A. The expression of microRNA-451 in human endometriotic lesions is inversely related to that of macrophage migration inhibitory factor (MIF)

and regulates MIF expression and modulation of epithelial cell survival / A. Graham, T. Falcone, W.B. Nothnick // *Hum. Reprod.* – 2015. – Vol. 30. – P. 642–652.

182. Expression of miR-126 and Crk in endometriosis: miR-126 may affect the progression of endometriosis by regulating Crk expression / S. Liu [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* - 2012. – Vol. 285. – P. 1065–1072.

183. miR-20a contributes to endometriosis by regulating NTN4 expression / M. Zhao [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* - 2014. – Vol. 41. – P. 5793–5797.

184. The differential expression of microRNA-143,145 in endometriosis / B. Zheng [et al.] // *Iran. J. Reprod. Med.* - 2014. – Vol. 12. – P. 555–560.

185. Functional microRNA involved in endometriosis / S.M. Hawkins [et al.] // *Mol. Endocrinol.* - 2011. – Vol. 25. – P. 821–832.

186. High-throughput sequencing approach uncovers the miRNome of peritoneal endometriotic lesions and adjacent healthy tissues / M. Saare [et al.] // *PLoS One.* - 2014. - Vol. 9, № 11. – P. e112630.

187. Burney, R.O. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis / R.O. Burney, L.C. Giudice // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98 (3). – P. 511-519.

188. Molecular aspects of development and regulation of endometriosis / Y.B. Aznaurova [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 12. – P. 50.

189. Rocha, A.L. Angiogenesis and endometriosis [Electronic resource] / A.L. Rocha, F.M. Reis, R.N. Taylor // *Obstet. Gynecol. Int.* – 2013. - doi: 10.1155/2013/859619.

190. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis / J. Donnez [et al.] // *Hum. Reprod.* – 1998. – Vol. 13 (6). – P. 1686-1690.

191. Witz, C.A. Cell adhesion molecules and endometriosis / C.A. Witz // *Semin. Reprod. Med.* – 2003. – Vol. 21 (2). – P. 173-182.

192. Focal adhesion kinase expression in ovarian endometriosis / L. Mu [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2008. – Vol. 101 (2). – P. 161-165.

193. MAP kinases and the inflammatory signaling cascade as targets for the treatment of endometriosis? / P. Santulli [et al.] // *Expert Opin. Ther. Targets.* – 2015. – Vol. 19 (11). – P. 1465-1483.

194. Abnormal activation of the sonic hedgehog signaling pathway in endometriosis and its diagnostic potency / Y. He [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2018. – Vol. 110 (1). – P. 128-136.

195. Differential induction of autophagy by mTOR is associated with abnormal apoptosis in ovarian endometriotic cysts / J. Choi [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2014. – Vol. 20 (4). – P. 309-317.

196. Wei, S. Systematic enrichment analysis of microRNA expression profiling studies in endometriosis / S. Wei, H. Xu, Y. Kuang // *Iran J. Basic Med. Sci.* – 2015. – Vol. 18 (5). – P. 423-429.

197. Surgical removal of endometriotic lesions alters local and systemic proinflammatory cytokines in endometriosis patients / S.P. Monsanto [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2016. – Vol. 105 (4). – P. 968-977.

198. Increased expression of interleukin-1 receptor type 1 in active endometriotic lesions / C. Lawson [et al.] // *Reproduction.* – 2007. – Vol. 133 (1). – P. 265-274.

199. Tosato, G. Interleukin-1 induces interleukin-6 production in peripheral blood monocytes / G. Tosato, K.D. Jones // *Blood.* – 1990. – Vol. 75 (6). – P. 1305-1310.

200. Ectopic endometrial cells express high concentrations of interleukin (IL)-8 in vivo regardless of the menstrual cycle phase and respond to oestradiol by up-regulating IL-1-induced IL-8 expression in vitro / A. Akoum [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2001. – Vol. 7 (9). – P. 859-866.

201. Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1beta / D.I. Lebovic [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2000. – Vol. 6. – P. 269–275.

202. Increased expression of cyclooxygenase-2 in local lesions of endometriosis patients / F. Chishima [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2002. – Vol. 48 (1). – P. 50-56.

203. Distribution of cyclooxygenase-2 in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis / H. Ota [et al.] // *Hum Reprod.* – 2001. – Vol. 16 (3). – P. 561-566.

204. Prostaglandin E2: the master of endometriosis? / M.H. Wu [et al.] // *Exp. Biol. Med.* – 2010. – Vol. 235 (6). – P. 668-677.

205. Kouro, T. IL-5- and eosinophil-mediated inflammation: from discovery to therapy / T. Kouro, K. Takatsu // *Int. Immunol.* – 2009. – Vol. 21 (12). -1303-1309.

206. Increased IL-7 expression in Vogt-Koyanagi-Harada disease / Y. Yang [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis Sci.* – 2012. – Vol. 53 (2). – P. 1012-1017.

207. Eisenberg, V.H. Is there an association between autoimmunity and endometriosis? / V.H. Eisenberg, M. Zolti, D. Soriano // *Autoimmun Rev.* – 2012. – Vol. 11 (11). – P. 806-814.

208. Sasson, I.E. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis / I.E. Sasson, H.S. Taylor // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2008. – Vol. 1127. – P. 106-115.

209. Endometrial Expression of Steroidogenic Factor 1 Promotes Cystic Glandular Morphogenesis / Y.M. Vasquez [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 30 (5). – P. 518-532.

210. Использование транскриптомных баз данных для анализа патогенетических факторов эндометриоза / М.Ю. Бобров [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2017. - № 4. – С. 34-44.

211. Wnt signaling in stem and cancer stem cells / P. Wend [et al.] // *Semin. Cell Dev. Biol.* – 2010. – Vol. 21 (8). – P. 855-863.

212. Endometriotic mesenchymal stem cells significantly promote fibrogenesis in ovarian endometrioma through the Wnt/ β -catenin pathway by paracrine production of TGF- β 1 and Wnt1 / J. Li [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2016. – Vol. 31(6). – P. 1224-1235.

213. MiR-143-3p suppresses the progression of ovarian cancer / H. Shi [et al.] // *Am. J. Transl. Res.* – 2018. – Vol. 10 (3). – P. 866-874.

214. MicroRNA-143-3p inhibits growth and invasiveness of melanoma cells by targeting cyclooxygenase-2 and inversely correlates with malignant melanoma progression / E. Panza [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 2018. – Vol. 156. – P. 52-59.

215. miR-200a-3p promotes the proliferation of human esophageal cancer cells by post-transcriptionally regulating cytoplasmic collapsin response mediator protein-1 / Y. Zang [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2016. – Vol. 38 (5). – P. 1558-1564.

216. Hinsby, A.M. Molecular mechanisms of NCAM function / A.M. Hinsby, V. Berezin, E. Bock // *Front Biosci.* – 2004. – Vol. 9. – P. 2227-2244.

217. The neural cell adhesion molecule regulates cell-surface delivery of G-protein-activated inwardly rectifying potassium channels via lipid rafts / M. Delling [et al.] // *J. Neurosci.* – 2002. – Vol. 22. – P. 7154-7164.

218. Smooth muscle metaplasia and innervation in interstitium of endometriotic lesions related to pain / K. Odagiri [et al.] // *Fertil. Steril.* - 2008. – Vol. 92. – P. 1525-1531.

219. Regulatory mechanism of malignant behavior of endometriosis mediated by puerarin / C.Q. Yu [et al.] // *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao.* – 2009. – Bd. 7. – S. 41-47.

220. de Barbosa, M. Evaluation of sensitivity, motor and pain thresholds across the menstrual cycle through medium-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation / M. de Barbosa, E.C. Guirro, F.R. Nunes // *Clinics.* - 2013. – Vol. 68. – P. 901-908.

221. De Tommaso, M. Pain perception during menstrual cycle / M. De Tommaso // *Curr. Pain Headache Rep.* - 2011. – Vol. 15. – P. 400-406.

222. Hellstrom, B. Pain perception across the menstrual cycle phases in women with chronic pain / B. Hellstrom, U.M. Anderberg // *Percept Mot. Skills.* - 2003. – Vol. 96. – P. 201-211.

223. Costigan, M. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage / M. Costigan, J. Scholz, C.J. Woolf // *Annu Rev. Neurosci.* - 2009. – Vol. 32. – P. 1-32.

224. High density of small nerve fibres in the functional layer of the endometrium in women with endometriosis / N. Tokushige [et al.] // *Hum. Reprod.* - 2006. – Vol. 21. – P. 782-787.
225. Rich innervation of deep infiltrating endometriosis / G. Wang [et al.] // *Hum. Reprod.* - 2009. – Vol. 24. – P. 827-834.
226. Chronic pelvic pain and endometriosis: translational evidence of the relationship and implications / P. Stratton, K.J. Berkley // *Hum. Reprod. Update.* - 2011. – Vol. 17. – P. 327-346.
227. Asante, A. Endometriosis: the role of neuroangiogenesis / A. Asante, R. Taylor // *Annu Rev. Physiol.* - 2011. – Vol. 73. – P. 163-182.
228. Immune interactions in endometriosis / J.L. Herington [et al.] // *Expert Rev. Clin. Immunol.* - 2011. – Vol. 7. – P. 611-626.
229. Increased mRNA expression of genes involved in pronociceptive inflammatory reactions in bladder tissue of interstitial cystitis / Y. Homma [et al.] // *J. Urol.* - 2013. - Vol. 190. – P. 1925-1931.
230. Schaible, H.G. Peripheral and central mechanisms of pain generation / H.G. Schaible // *Hand Exp. Pharmacol.* - 2007. – Vol. 177. – P. 3-28.
231. Novel estrogen-related genes and potential biomarkers of ovarian endometriosis identified by differential expression analysis / K. Vouk [et al.] // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* - 2011. – Vol. 125. – P. 231-242.
232. Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis / R.O. Burney [et al.] // *Endocrinology.* - 2007. – Vol. 148. – P. 3814-3826.
233. Enhanced inflammatory activity of endometriotic lesions from the rectovaginal septum / D. Bertschi [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2013. – Vol. 45. – P. 95.
234. Correlation between symptoms of pain and peritoneal fluid inflammatory cytokine concentrations in endometriosis / B. Scholl [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* - 2009. - Vol. 25. – P. 701-706.

235. Whole genome deoxyribonucleic acid microarray analysis of gene expression in ectopic versus eutopic endometrium / K.M. Eyster [et al.] // *Fertil. Steril.* - 2007. – Vol. 88. - P. 1505-1533.

236. Genome-wide expressions in autologous eutopic and ectopic endometrium of fertile women with endometriosis / M.A. Khan [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* - 2012. – Vol. 10. – P. 84.

237. Cellular and molecular mechanisms of pain / A.I. Basbaum [et al.] // *Cell.* - 2009. Vol. 139. – P. 267-284.

238. Potassium channels as a potential therapeutic target for trigeminal neuropathic and inflammatory pain / M. Takeda [et al.] // *Mol. Pain.* - 2011. – Vol. 7. – P. 5.

239. Activation of peripheral KCNQ channels attenuates inflammatory pain / H. Hayashi [et al.] // *Mol. Pain.* - 2014. – Vol. 10. – P. 15.

240. Lau, B.K. Descending modulation of pain: the GABA disinhibition hypothesis of analgesia / B.K. Lau, C.W. Vaughan // *Curr. Opin. Neurobiol.* - 2014. – Vol. 29. – P. 159-164.

241. 5-HT acts on nociceptive primary afferents through an indirect mechanism to induce hyperalgesia in the subcutaneous tissue / M.C. Oliveira [et al.] // *Neuroscience.* - 2007. – Vol. 145. – P. 708-714.

242. Bardin, L. The complex role of serotonin and 5-HT receptors in chronic pain / L. Bardin // *Behav. Pharmacol.* - 2011. – Vol. 22. – P. 390-404.

243. Peripheral changes in endometriosis-associated pain / M. Morotti [et al.] // *Hum Reprod. Update.* – 2014. – Vol. 20. – P. 717-736.

244. Triolo, O. Chronic pelvic pain in endometriosis: an overview / O. Triolo, A. S. Lagana, E. Sturlese // *J. Clin. Med. Res.* - 2013. – Vol. 5. – P. 153-163.

245. IL-1, IL-6 and TNF-alpha concentrations in the peritoneal fluid of women with pelvic adhesions / Y.C. Cheong [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 69–75.

246. Peritoneal cytokines and adhesion formation in endometriosis: An inverse association with vascular endothelial growth factor concentration / E. Barcz [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 97. – P. 1380–1386.

247. Time to redefine endometriosis including its pro-fibrotic nature / P. Vigano [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2018. – Vol. 33. – P. 347–352.

248. TGF-beta1 regulates cell migration through pluripotent transcription factor OCT4 in endometriosis / H.K. Au [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10. – P. e0145256.

249. Expression of the pluripotent transcription factor OCT4 promotes cell migration in endometriosis / J.H. Chang [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 99. – P. 1332–1339.

250. Platelets drive smooth muscle metaplasia and fibrogenesis in endometriosis through epithelial–mesenchymal transition and fibroblast-to-myofibroblast transdifferentiation / Q. Zhang [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 428. – P. 1–16.

251. MicroRNA-29b inhibits TGF-beta1-induced fibrosis via regulation of the TGF-beta1/Smad pathway in primary human endometrial stromal cells / J. Li [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2016. – Vol. 13. – P. 4229–4237.

252. Host responses in tissue repair and fibrosis / J.S. Duffield [et al.] // *Annu Rev Pathol.* - 2013. – Vol. 8 (1). – P. 241-276.

253. Regulation of myofibroblast activities: calcium pulls some strings behind the scene / C.L. Follonier [et al.] // *Exp. Cell Res.* - 2010. – Vol. 316. – P. 2390-2401.

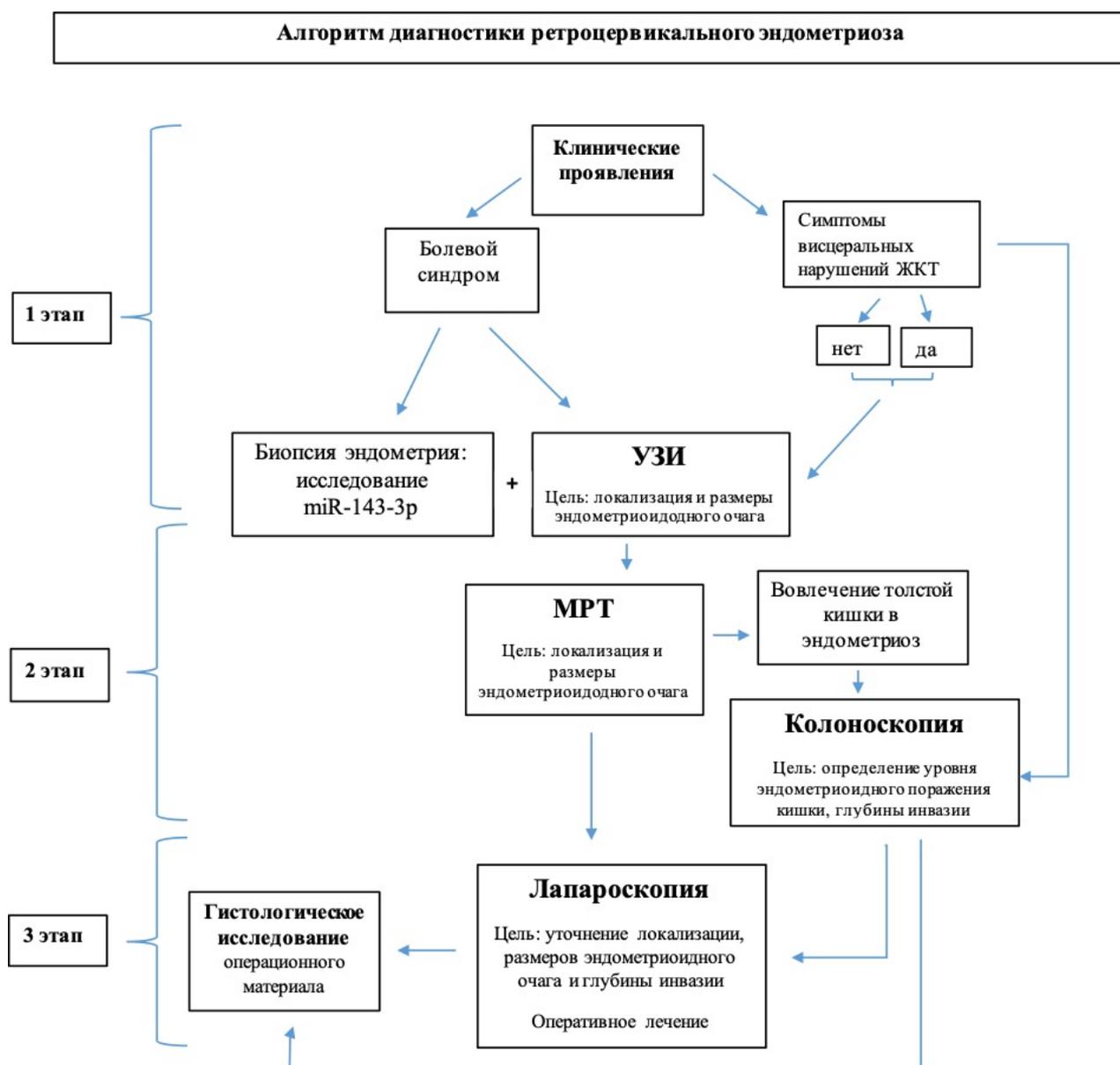
254. Recent developments in myofibroblast biology: paradigms for connective tissue remodeling / B. Hinz [et al.] // *Am. J. Pathol.* - 2012. – Vol. 180. – P. 1340-1355.

255. Dissecting fibrosis: therapeutic insights from the small-molecule toolbox / C.B. Nanthakumar [et al.] // *Nat. Rev. Drug Discov.* - 2015. – Vol. 14. – P. 693-720.

256. Walton, K.L. Targeting TGF- β mediated SMAD signaling for the prevention of fibrosis / K.L. Walton, K.E. Johnson, C.A. Harrison // *Front Pharmacol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 461.

257. Advanced role of Hippo signaling in endometrial fibrosis: implications for intrauterine adhesion / H.Y. Zhu [et al.] // *Chin. Med. J.* – 2017. – Vol. 130. – P. 2732-2737.
258. Twisted gastrulation, a BMP antagonist, exacerbates podocyte injury / S. Yamada [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – P. e89135.
259. The expression of marker for endometrial stem cell and fibrosis was increased in intrauterine adhesions / J. Hu [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2015. – Vol. 8. – P. 1525-1534.
260. Effect of transforming growth factor- β 1 on α -smooth muscle actin and collagen expression in equine endometrial fibroblasts / A.Z. Szóstek-Mioduchowska [et al.] // *Theriogenology.* – 2019. – Vol. 124. – P. 9-17.
261. Leask, A. The role of connective tissue growth factor, a multifunctional matricellular protein, in fibroblast biology / A. Leask, D.J. Abraham // *Biochem. Cell Biol.* - 2003. – Vol. 81. – P. 355-363.
262. The CCN family: a new class of inflammation modulators? / L. Kular [et al.] // *Biochimia.* – 2011. – Vol. 93. – P. 377-388.
263. Down-regulation of connective tissue growth factor and type I collagen mRNA expression by connective tissue growth factor antisense oligonucleotide during experimental liver fibrosis / K. Uchio [et al.] // *Wound Repair Regen.* – 2004. – Vol. 12. – P. 60-66.
264. The Overexpression of TGF- β and CCN2 in intrauterine adhesions involves the NF- κ B signaling pathway / X. Xue [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10. – P. e0146159.
265. Niehrs, C. The complex world of WNT receptor signaling / C. Niehrs // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2012. – Vol. 13. – P. 767-779.
266. Clevers, H. Wnt/ β -catenin signaling and disease / H. Clevers, R. Nusse // *Cell.* – 2012. – Vol. 149. – P. 1192-1205.
267. Wnt/ β -catenin signaling is hyperactivated in systemic sclerosis and induces Smad-dependent fibrotic responses in mesenchymal cells / J. Wei [et al.] // *Arthritis Rheum.* - 2012. – Vol. 64. – P. 2734-2745.

268. Zhang, Q. Update of Wnt signaling in implantation and decidualization. / Q. Zhang, J. Yan // *Reprod. Med. Biol.* – 2016. – Vol. 15. – P. 95-105.
269. Betsholtz, C. Biology of platelet-derived growth factors in development. / C. Betsholtz // *Birth Defects Res. Embryo Today.* – 2003. – Vol. 69. – P. 272-285.
270. Bonner, J.C. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases / J.C. Bonner // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2004. – Vol. 15. – P. 255-273.
271. Floege, J. A new look at platelet-derived growth factor in renal disease. / J. Floege, F. Eitner, C.E. Alpers // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2008. – Vol. 19. – P. 12-23.
272. The role of focal adhesion kinase-phosphatidylinositol 3-kinase-akt signaling in hepatic stellate cell proliferation and type I collagen expression / S. Reif [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278. – P. 8083-8090.
273. Heldin, C.H. New members of the platelet-derived growth factor family of mitogens / C.H. Heldin, U. Eriksson, A. Ostman // *Arch Biochem Biophys* 398:284-90, 2002
274. Tao Z., Duan H. Expression of adhesion-related cytokines in the uterine fluid after transcervical resection of adhesion / Tao Z., Duan H. // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2012. – Bd. 47. – S. 734-737.
275. Garrido, N., Pellicer, A., Remohi, J., and Simon, C. Uterine and ovarian function in endometriosis. *Semin Reprod Med.* 2003; 21: 183–192
276. Pellicer, A., Albert, C., Garrido, N., Navarro, J., Remohi, J., and Simon, C. The pathophysiology of endometriosis-associated infertility: follicular environment and embryo quality. *J Reprod Fertil Suppl.* 2000; 55: 109–119
277. Gupta S, Goldberg JM, Aziz N, Goldberg E, Krajcir N, Agarwal A. Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril.* 2008 Aug;90(2):247-57. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.02.093. Review. PubMed PMID: 18672121.



Приложение 2

Пути внутриклеточной сигнализации и биологические процессы, полученные при обогащении списков дифференциально экспрессированных генов, с использованием программы Transcriptome Analysis Console (Affymetrix, ThermoFisher) и базы данных Wiki-pathways (<http://www.wikipathways.org>). Ec-Eu

Pathway	Total	Up	Down	Signif.	p-val.
Complement and Coagulation Cascades	7	4	3	4,04	9,1E-05
Dengue-2 Interactions with Complement and Coagulation Cascades	7	4	3	4	1,0E-04
PI3K-Akt Signaling Pathway	17	8	9	3,86	1,4E-04
Epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer	11	1	10	3,85	1,4E-04
Ferroptosis	5	0	5	3,22	6,0E-04
Focal Adhesion-PI3K-Akt-mTOR-signaling pathway	14	7	7	2,96	1,1E-03
Retinoblastoma Gene in Cancer	7	0	7	2,95	1,1E-03
H19 action Rb-E2F1 signaling and CDK-Beta-catenin activity	3	0	3	2,67	2,1E-03
Fluoropyrimidine Activity	4	1	3	2,53	3,0E-03
Signaling Pathways in Glioblastoma	6	1	5	2,42	3,8E-03
Endoderm Differentiation	8	2	6	2,35	4,4E-03
Spinal Cord Injury	7	6	1	2,31	4,9E-03
Cell junction organization	7	3	4	2,29	5,1E-03
Allograft Rejection	6	6	0	2,23	6,0E-03
Metabolic reprogramming in colon cancer	4	0	4	2,19	6,4E-03
Hedgehog Signaling Pathway	4	3	1	2,19	6,4E-03
LncRNA involvement in canonical Wnt signaling and colorectal cancer	6	1	5	2,09	8,0E-03
Prostaglandin Synthesis and Regulation	4	4	0	2,05	8,8E-03
Relationship between inflammation, COX-2 and EGFR	3	2	1	2,02	9,5E-03
Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy	5	0	5	1,99	1,0E-02
miR-targeted genes in muscle cell - TarBase	15	2	13	1,88	1,3E-02
Cell migration and invasion through p75NTR	4	3	1	1,87	1,4E-02
NRF2 pathway	7	0	7	1,85	1,4E-02
Gastric Cancer Network 1	3	0	3	1,84	1,4E-02
Nuclear Receptors Meta-Pathway	12	3	9	1,79	1,6E-02
Hepatitis C and Hepatocellular Carcinoma	4	1	3	1,76	1,7E-02
ncRNAs involved in Wnt signaling in hepatocellular carcinoma	5	1	4	1,73	1,8E-02
Focal Adhesion	8	3	5	1,59	2,5E-02
MECP2 and Associated Rett Syndrome	4	2	2	1,59	2,6E-02
Hippo-Merlin Signaling Dysregulation	7	2	5	1,58	2,6E-02
Photodynamic therapy-induced HIF-1 survival signaling	3	1	2	1,56	2,8E-02
G1 to S cell cycle control	4	0	4	1,55	2,8E-02
Chemokine signaling pathway	7	5	2	1,54	2,9E-02
Endochondral Ossification	4	3	1	1,53	3,0E-02
Human Thyroid Stimulating Hormone (TSH) signaling pathway	4	0	4	1,53	3,0E-02
Pathways Regulating Hippo Signaling	5	3	2	1,52	3,0E-02
DNA Damage Response	4	0	4	1,49	3,3E-02
Integrin-mediated Cell Adhesion	5	1	4	1,47	3,4E-02
miR-targeted genes in epithelium - TarBase	12	1	11	1,43	3,7E-02
Glucocorticoid Receptor Pathway	4	3	1	1,43	3,7E-02
Pathogenic Escherichia coli infection	4	1	3	1,43	3,7E-02
DNA Replication	3	0	3	1,42	3,8E-02
Splicing factor NOVA regulated synaptic proteins	3	2	1	1,42	3,8E-02
Human Complement System	6	4	2	1,37	4,2E-02
miRNA targets in ECM and membrane receptors	3	2	1	1,32	4,8E-02
ESC Pluripotency Pathways	5	1	4	1,25	5,6E-02
miR-targeted genes in lymphocytes - TarBase	15	2	13	1,24	5,8E-02
Synaptic signaling pathways associated with autism spectrum disorder	3	2	1	1,23	5,9E-02
Pyrimidine metabolism	5	2	3	1,21	6,2E-02
Cell Cycle	5	0	5	1,19	6,5E-02
One carbon metabolism and related pathways	3	0	3	1,19	6,5E-02
miR-targeted genes in squamous cell - TarBase	6	1	5	1,18	6,6E-02
Apoptosis-related network due to altered Notch3 in ovarian cancer	3	0	3	1,17	6,8E-02
Apoptosis	4	0	4	1,16	6,9E-02
Transport of bile salts and organic acids, metal ions and amine compounds	4	1	3	1,15	7,1E-02
Eicosanoid Synthesis	3	2	1	1,14	7,2E-02
VEGFA-VEGFR2 Signaling Pathway	8	3	5	1,11	7,8E-02
Hair Follicle Development: Cytodifferentiation (Part 3 of 3)	4	1	3	1,1	7,9E-02
Hematopoietic Stem Cell Differentiation	4	1	3	1,09	8,1E-02
Proposed models for the context-dependent roles of β -TRCP in re	4	1	3	1,08	8,4E-02
MET in type 1 papillary renal cell carcinoma	3	1	2	1,06	8,7E-02
Preimplantation Embryo	3	0	3	1,06	8,7E-02
TGF-beta Signaling Pathway	5	2	3	1,03	9,3E-02
miRNA Regulation of DNA Damage Response	4	0	4	1,01	9,7E-02

Ec-Norm 1

Pathway	Total	Up	Down	Signif.	p-val.
O-linked glycosylation	4	0	4	11,54	0,0E+00
Deubiquitination	3	1	2	10,48	0,0E+00
miR-targeted genes in muscle cell - TarBase	69	31	38	8,56	0,0E+00
miR-targeted genes in lymphocytes - TarBase	77	30	47	7,99	0,0E+00
Chromatin organization	3	0	3	7,38	0,0E+00
Nuclear Receptors Meta-Pathway	54	24	30	7,16	0,0E+00
Processing of Capped Intron-Containing Pre-mRNA	4	0	4	6,9	0,0E+00
Cholesterol Biosynthesis Pathway	9	0	9	6,52	0,0E+00
Focal Adhesion-PI3K-Akt-mTOR-signaling pathway	50	29	21	6,51	0,0E+00
Pathways in clear cell renal cell carcinoma	22	8	14	6,32	0,0E+00
VEGFA-VEGFR2 Signaling Pathway	42	27	15	6,31	0,0E+00
Class A/1 (Rhodopsin-like receptors)	12	9	3	6,22	1,0E-06
Immunoregulatory Lymphoid and a non-Lymphoid cell	4	2	2	6,1	1,0E-06
Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy	19	9	10	5,65	2,0E-06
miR-targeted genes in epithelium - TarBase	53	19	34	5,59	3,0E-06
Ectoderm Differentiation	28	17	11	5,47	3,0E-06
Regulation of IGF transport and uptake by IGFBPs	3	2	1	5,34	5,0E-06
Glucocorticoid Receptor Pathway	18	11	7	5,3	5,0E-06
Amino Acid metabolism	21	3	18	5,13	7,0E-06
Complement cascade	3	3	0	5,05	9,0E-06
PI3K-Akt Signaling Pathway	50	31	19	4,9	1,3E-05
Mitotic G1-G1/S phases	3	1	2	4,69	2,0E-05
Fatty Acid Biosynthesis	9	2	7	4,55	2,8E-05
NRF2 pathway	26	9	17	4,36	4,4E-05
Metabolic reprogramming in colon cancer	12	1	11	4,28	5,2E-05
Cholesterol biosynthesis	9	0	9	4,06	8,7E-05
One carbon metabolism and related pathways	13	3	10	3,93	1,2E-04
Prostaglandin Synthesis and Regulation	12	7	5	3,86	1,4E-04
Intra-Golgi and retrograde Golgi-to-ER traffic	3	0	3	3,79	1,6E-04
miR-targeted genes in leukocytes - TarBase	27	9	18	3,78	1,7E-04
Major pathway of rRNA processing in the nucleolus and cytosol	3	0	3	3,64	2,3E-04
Liver steatosis AOP	19	5	14	3,47	3,4E-04
Zinc homeostasis	10	0	10	3,44	3,6E-04
Signaling by FGFR2	3	0	3	3,34	4,6E-04
Ferroptosis	10	2	8	3,24	5,7E-04
Tryptophan metabolism	11	4	7	3,23	5,9E-04
Proposed models for the TRCP in regulating the Wnt signaling.	17	10	7	3,17	6,8E-04
Thermogenesis	19	2	17	3,14	7,3E-04
ESR-mediated signaling	4	1	3	3,12	7,7E-04
Epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer	25	11	14	3,09	8,2E-04
miR-targeted genes in squamous cell - TarBase	25	14	11	3,09	8,2E-04
Fatty Acid Beta Oxidation	9	0	9	3,08	8,3E-04
Trans-sulfuration pathway	11	1	10	3,07	8,6E-04
Mevalonate pathway	4	0	4	2,99	1,0E-03
Lipid Metabolism Pathway	8	2	6	2,92	1,2E-03
Signaling by VEGF	3	2	1	2,89	1,3E-03
IL1 and megakaryocytes in obesity	7	4	3	2,77	1,7E-03
Sulfation Biotransformation Reaction	6	2	4	2,77	1,7E-03
SREBF and miR33 in cholesterol and lipid homeostasis	6	0	6	2,77	1,7E-03
Post-translational modification: synthesis of GPI-anchored proteins	3	0	3	2,74	1,8E-03
NAD Biosynthesis II (from tryptophan)	4	0	4	2,72	1,9E-03
Phosphodiesterases in neuronal function	11	9	2	2,69	2,0E-03
Oxidative Stress	8	4	4	2,53	2,9E-03
Lung fibrosis	12	7	5	2,49	3,2E-03
Interleukin-1 family signaling	6	4	2	2,49	3,3E-03
Macrophage markers	4	4	0	2,49	3,2E-03
Insulin Signaling	23	9	14	2,36	4,3E-03
Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) signaling pathway	21	11	10	2,32	4,7E-03
Allograft Rejection	15	12	3	2,3	5,0E-03

Ec-Norm 2

Pathway	Total	Up	Down	Signif.	p-val.
Trans-sulfuration pathway	4	0	4	2,3	5,0E-03
Methionine De Novo and Salvage Pathway	6	1	5	2,28	5,2E-03
PPAR signaling pathway	12	4	8	2,27	5,3E-03
Degradation of the extracellular matrix	4	2	2	2,26	5,5E-03
Complement and Coagulation Cascades	11	9	2	2,25	5,6E-03
Hippo-Merlin Signaling Dysregulation	20	16	4	2,23	5,9E-03
Photodynamic therapy-induced HIF-1 survival signaling	8	1	7	2,21	6,2E-03
Dengue-2 Interactions with Complement and Coagulation Cascades	11	9	2	2,2	6,3E-03
Focal Adhesion	26	21	5	2,16	7,0E-03
Transcriptional regulation by RUNX3	3	2	1	2,16	6,9E-03
HOX genes in hindbrain development during early embryogenesis	3	0	3	2,16	6,9E-03
Striated Muscle Contraction Pathway	8	7	1	2,13	7,4E-03
EV release from cardiac cells and their functional effects	4	3	1	2,13	7,4E-03
Mitochondrial LC-Fatty Acid Beta-Oxidation	5	0	5	2,12	7,6E-03
Ion channel transport	6	1	5	2,11	7,7E-03
Ethanol effects on histone modifications	7	4	3	2,09	8,0E-03
Trans-sulfuration and one carbon metabolism	7	0	7	2,09	8,0E-03
Mesodermal Commitment Pathway	21	11	10	2,03	9,4E-03
Transcriptional Regulation by MECP2	3	1	2	2,01	9,7E-03
Hypothesized Pathways in Pathogenesis of Cardiovascular Disease	6	6	0	1,99	1,0E-02
Interferon alpha/beta signaling	4	3	1	1,98	1,1E-02
Pathways Regulating Hippo Signaling	15	12	3	1,94	1,1E-02
Sterol Regulatory Element-Binding Proteins (SREBP) signalling	12	2	10	1,91	1,2E-02
WikiPathways Academy: fig-met-1-fourth	3	0	3	1,9	1,3E-02
Spinal Cord Injury	17	15	2	1,88	1,3E-02
Integrin-mediated Cell Adhesion	15	8	7	1,88	1,3E-02
Photodynamic therapy-induced AP-1 survival signaling.	9	4	5	1,88	1,3E-02
Hedgehog Signaling Pathway	8	6	2	1,87	1,4E-02
Extracellular matrix organization	4	4	0	1,86	1,4E-02
Transcriptional cascade regulating adipogenesis	4	1	3	1,85	1,4E-02
Myometrial Relaxation and Contraction Pathways	21	14	7	1,84	1,5E-02
Hair Follicle Development: Cytodifferentiation (Part 3 of 3)	14	9	5	1,81	1,5E-02
Urea cycle and metabolism of amino groups	5	0	5	1,8	1,6E-02
Olfactory bulb development and olfactory learning	5	3	2	1,8	1,6E-02
Cell migration and invasion through p75NTR	9	7	2	1,78	1,7E-02
Fragile X Syndrome	17	2	15	1,74	1,8E-02
Target Of Rapamycin (TOR) Signaling	7	0	7	1,74	1,8E-02
MFAP5-mediated ovarian cancer cell motility and invasiveness	4	2	2	1,73	1,9E-02
Hedgehog 'on' state	3	2	1	1,73	1,9E-02
Cholesterol biosynthesis, regulation and transport	4	0	4	1,72	1,9E-02
ApoE and miR-146 in inflammation and atherosclerosis	3	0	3	1,72	1,9E-02
Cell surface interactions at the vascular wall	12	7	5	1,71	2,0E-02
ncRNAs involved in Wnt signaling in hepatocellular carcinoma	13	6	7	1,65	2,2E-02
Glycolysis and Gluconeogenesis	8	0	8	1,64	2,3E-02
Notch Signaling Pathway	10	2	8	1,6	2,5E-02
Factors involved in megakaryocyte development and platelet production	3	1	2	1,6	2,5E-02
Vitamin D Receptor Pathway	23	12	11	1,59	2,6E-02
Heart Development	8	5	3	1,59	2,6E-02
Endoderm Differentiation	19	7	12	1,57	2,7E-02
Hypothetical Craniofacial Development Pathway	3	2	1	1,57	2,7E-02
Folate-Alcohol and Cancer Pathway Hypotheses	3	1	2	1,57	2,7E-02
Glycolysis and Gluconeogenesis - for workshop	7	0	7	1,56	2,8E-02
Photodynamic therapy-induced NFE2L2 (NRF2) survival signaling	5	2	3	1,55	2,8E-02
ID signaling pathway	4	1	3	1,52	3,0E-02
TCA Cycle and Deficiency of Pyruvate Dehydrogenase complex (PDHc)	4	0	4	1,52	3,0E-02
Proteasome Degradation	10	1	9	1,5	3,2E-02
White fat cell differentiation	6	2	4	1,48	3,3E-02
Opioid Signalling	3	0	3	1,46	3,5E-02
Copper homeostasis	9	3	6	1,45	3,6E-02
Integrin cell surface interactions	8	6	2	1,45	3,6E-02

Ec-Norm 3

Pathway	Total	Up	Down	Signif.	p-val.
TP53 Regulates Transcription of Cell Death Genes	3	0	3	1,45	3,5E-02
EGF/EGFR Signaling Pathway	20	12	8	1,44	3,7E-02
Neural Crest Differentiation	14	7	7	1,44	3,6E-02
Liver X Receptor Pathway	3	0	3	1,44	3,6E-02
Cells and Molecules involved in local acute inflammatory response	4	4	0	1,43	3,7E-02
Eicosanoid Synthesis	6	3	3	1,41	3,9E-02
Splicing factor NOVA regulated synaptic proteins	7	5	2	1,4	4,0E-02
JAK/STAT	15	8	7	1,35	4,4E-02
Glycogen Synthesis and Degradation	7	0	7	1,35	4,4E-02
Estrogen metabolism	4	0	4	1,35	4,5E-02
MFAP5 effect on permeability and motility of endothelial cells	4	4	0	1,35	4,5E-02
Platelet-mediated interactions with vascular and circulating cells	4	4	0	1,35	4,5E-02
Mammary gland development pathway	4	1	3	1,35	4,5E-02
Cori Cycle	4	0	4	1,35	4,5E-02
Steatosis AOP	6	0	6	1,34	4,5E-02
Twelve loci associated with ADHD	5	1	4	1,34	4,5E-02
Breast cancer pathway	19	11	8	1,33	4,6E-02
Pancreatic adenocarcinoma pathway	12	7	5	1,33	4,7E-02
Plasma lipoprotein assembly, remodeling, and clearance	3	0	3	1,32	4,8E-02
Transcriptional regulation of white adipocyte differentiation	3	2	1	1,31	5,0E-02
ESC Pluripotency Pathways	15	9	6	1,29	5,1E-02
Metapathway biotransformation Phase I and II	22	5	17	1,28	5,3E-02
Endometrial cancer	9	4	5	1,24	5,7E-02
MECP2 and Associated Rett Syndrome	9	4	5	1,24	5,7E-02
Alanine and aspartate metabolism	3	1	2	1,23	5,9E-02
Hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma pathway	4	1	3	1,2	6,3E-02
Glutathione metabolism	4	1	3	1,2	6,3E-02
mRNA Processing	4	0	4	1,2	6,4E-02
Phase I - Functionalization of compounds	3	0	3	1,18	6,6E-02
Regulatory circuits of the STAT3 signaling pathway	12	6	6	1,17	6,8E-02
Sleep regulation	6	3	3	1,17	6,8E-02
Nonalcoholic fatty liver disease	18	4	14	1,16	7,0E-02
Imatinib and Chronic Myeloid Leukemia	4	4	0	1,14	7,3E-02
Kennedy pathway from Sphingolipids	3	0	3	1,14	7,3E-02
Irinotecan Pathway	3	2	1	1,14	7,3E-02
Extracellular vesicle-mediated signaling in recipient cells	5	4	1	1,12	7,7E-02
Glycerophospholipid biosynthesis	6	0	6	1,11	7,8E-02
Wnt Signaling	14	6	8	1,09	8,1E-02
PI3K/AKT/mTOR - VitD3 Signalling	4	2	2	1,08	8,4E-02
Regulation of Apoptosis by Parathyroid Hormone-related Protein	4	1	3	1,08	8,4E-02
Envelope proteins and their potential roles in EDMD physiopathology	7	4	3	1,07	8,6E-02
Mechanoregulation of YAP/TAZ via Hippo and non-Hippo mechanisms	7	4	3	1,07	8,6E-02
miRNA targets in ECM and membrane receptors	7	7	0	1,07	8,6E-02
Statin Pathway	5	0	5	1,07	8,6E-02
PI3K-AKT-mTOR signaling pathway and therapeutic opportunities	5	1	4	1,07	8,6E-02
Genes related to primary cilium development (based on CRISPR)	4	2	2	1,05	8,8E-02
Glucose metabolism	3	0	3	1,05	8,8E-02
Amyloid fiber formation	3	1	2	1,05	8,9E-02
Signaling by MET	3	1	2	1,05	9,0E-02
Formation of Fibrin Clot (Clotting Cascade)	3	2	1	1,05	9,0E-02
Pyrimidine metabolism	12	3	9	1,02	9,5E-02
Signaling Pathways in Glioblastoma	11	3	8	1,02	9,5E-02
Monoamine Transport	5	1	4	1,02	9,6E-02
Gastric Cancer Network 2	5	2	3	1,02	9,6E-02
Human Thyroid Stimulating Hormone (TSH) signaling pathway	9	4	5	1,01	9,8E-02
IL-3 Signaling Pathway	7	5	2	1	9,9E-02
Apoptosis Modulation and Signaling	8	1	7	0,99	1,0E-01

Eu-Norm 1

Pathway	Total	Up	Down	Signif.	p-val.
Ectoderm Differentiation	14	5	9	5,53	3,0E-06
miR-targeted genes in leukocytes - TarBase	14	8	6	4,8	1,6E-05
Pathways in clear cell renal cell carcinoma	10	2	8	4,7	2,0E-05
PI3K-Akt Signaling Pathway	21	13	8	4,66	2,2E-05
Nuclear Receptors Meta-Pathway	20	6	14	4,5	3,2E-05
miR-targeted genes in lymphocytes - TarBase	27	14	13	4,45	3,6E-05
Focal Adhesion-PI3K-Akt-mTOR-signaling pathway	19	12	7	4,38	4,2E-05
Trans-sulfuration pathway	7	1	6	4,11	7,7E-05
Fatty Acid Biosynthesis	5	0	5	3,93	1,2E-04
Zinc homeostasis	6	0	6	3,86	1,4E-04
Copper homeostasis	7	1	6	3,73	1,9E-04
Ferroptosis	6	2	4	3,73	1,9E-04
Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) signaling pathway	11	5	6	3,43	3,8E-04
Liver steatosis AOP	9	2	7	3,34	4,6E-04
miR-targeted genes in muscle cell - TarBase	21	15	6	3,3	5,1E-04
Trans-sulfuration and one carbon metabolism	5	1	4	3,29	5,2E-04
Sulfation Biotransformation Reaction	4	1	3	3,27	5,4E-04
ncRNAs involved in Wnt signaling in hepatocellular carcinoma	8	4	4	3,23	5,9E-04
Allograft Rejection	8	4	4	3,04	9,2E-04
Photodynamic therapy-induced HIF-1 survival signaling	5	2	3	2,92	1,2E-03
Complement and Coagulation Cascades	6	6	0	2,71	1,9E-03
Dengue-2 Interactions with Complement and Coagulation Cascades	6	6	0	2,68	2,1E-03
VEGFA-VEGFR2 Signaling Pathway	13	8	5	2,61	2,4E-03
Thermogenesis	8	1	7	2,59	2,6E-03
miR-targeted genes in squamous cell - TarBase	10	7	3	2,55	2,8E-03
TGF-beta Signaling Pathway	9	6	3	2,54	2,9E-03
Ebola Virus Pathway on Host	9	5	4	2,47	3,4E-03
Senescence and Autophagy in Cancer	8	4	4	2,42	3,8E-03
Cholesterol Biosynthesis Pathway	3	0	3	2,41	3,9E-03
Focal Adhesion	11	10	1	2,36	4,3E-03
Oxidative Stress	4	2	2	2,26	5,6E-03
Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy	6	4	2	2,25	5,6E-03
LncRNA involvement in canonical Wnt signaling and colorectal cancer	7	4	3	2,24	5,7E-03
Apoptosis-related network due to altered Notch3 in ovarian cancer	5	4	1	2,23	5,9E-03
Fatty Acid Beta Oxidation	4	0	4	2,21	6,2E-03
SREBF and miR33 in cholesterol and lipid homeostasis	3	0	3	2,18	6,6E-03
Mesodermal Commitment Pathway	9	5	4	2,16	6,9E-03
Angiotensin Like Protein 8 Regulatory Pathway	8	1	7	2,05	8,9E-03
Olfactory bulb development and olfactory learning	3	3	0	2,05	8,9E-03
Insulin Signaling	9	2	7	2,03	9,4E-03
Metallothioneins bind metals	3	0	3	1,93	1,2E-02
Globo Sphingolipid Metabolism	3	2	1	1,93	1,2E-02
IL-5 Signaling Pathway	4	4	0	1,92	1,2E-02
Lung fibrosis	5	3	2	1,89	1,3E-02
Metabolic reprogramming in colon cancer	4	0	4	1,88	1,3E-02
Splicing factor NOVA regulated synaptic proteins	4	3	1	1,88	1,3E-02
The human immune response to tuberculosis	3	2	1	1,88	1,3E-02
Photodynamic therapy-induced NFE2L2 (NRF2) survival signaling	3	1	2	1,88	1,3E-02
NRF2 pathway	8	2	6	1,87	1,3E-02
Wnt Signaling	7	4	3	1,86	1,4E-02
Endoderm Differentiation	8	4	4	1,84	1,4E-02
Prostaglandin Synthesis and Regulation	4	1	3	1,75	1,8E-02
Tryptophan metabolism	4	0	4	1,75	1,8E-02
Cholesterol biosynthesis	3	0	3	1,73	1,8E-02
Glucocorticoid Receptor Pathway	5	2	3	1,71	1,9E-02
Vitamin D Receptor Pathway	9	4	5	1,67	2,1E-02
Sterol Regulatory Element-Binding Proteins (SREBP) signalling	5	0	5	1,66	2,2E-02
IL-3 Signaling Pathway	4	3	1	1,66	2,2E-02
Lipid Metabolism Pathway	3	0	3	1,61	2,5E-02
Class A/1 (Rhodopsin-like receptors)	4	1	3	1,54	2,9E-02

Eu-Norm 2

Pathway	Total	Up	Down	Signif.	p-val.
Ethanol effects on histone modifications	3	0	3	1,53	3,0E-02
Chemokine signaling pathway	8	5	3	1,53	3,0E-02
RANKL/RANK (Receptor activator of NFkB (ligand)) Signaling Pathway	4	3	1	1,5	3,2E-02
Monoamine Transport	3	1	2	1,49	3,2E-02
Serotonin HTR1 Group and FOS Pathway	3	1	2	1,46	3,5E-02
Interferon type I signaling pathways	4	2	2	1,42	3,8E-02
Kit receptor signaling pathway	4	4	0	1,4	4,0E-02
Target Of Rapamycin (TOR) Signaling	3	0	3	1,36	4,3E-02
Notch Signaling Pathway	4	2	2	1,36	4,4E-02
Circadian rhythm related genes	9	2	7	1,33	4,7E-02
MAPK Signaling Pathway	10	5	5	1,32	4,8E-02
Proposed models for the context-dependent roles of β -TRCP in regu	5	3	2	1,28	5,3E-02
Endochondral Ossification	4	4	0	1,25	5,6E-02
Type II interferon signaling (IFNG)	3	2	1	1,22	6,0E-02
PPAR signaling pathway	4	0	4	1,21	6,1E-02
miR-targeted genes in epithelium - TarBase	13	8	5	1,2	6,3E-02
Ras Signaling	8	5	3	1,18	6,6E-02
Wnt Signaling Pathway and Pluripotency	5	3	2	1,15	7,0E-02
Integrin-mediated Cell Adhesion	5	2	3	1,15	7,0E-02
Metapathway biotransformation Phase I and II	8	0	8	1,15	7,0E-02
Neural Crest Cell Migration in Cancer	3	1	2	1,15	7,1E-02
Growth hormone receptor signaling	3	3	0	1,15	7,1E-02
Interleukin-11 Signaling Pathway	3	3	0	1,15	7,1E-02
Parkinsons Disease Pathway	4	2	2	1,14	7,2E-02
Glycolysis and Gluconeogenesis	3	0	3	1,1	7,9E-02
Translational regulation by PDGFR α ;	3	1	2	1,1	7,9E-02
Thymic Stromal LymphoPoietin (TSLP) Signaling Pathway	3	3	0	1,06	8,7E-02
Epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer	7	4	3	1,04	9,1E-02
Photodynamic therapy-induced AP-1 survival signaling.	3	1	2	1,02	9,6E-02
Complement cascade	3	3	0	1,01	9,8E-02
Wnt Signaling Pathway	3	1	2	1	1,0E-01