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

На правах рукописи

БЫКОВ
Анатолий Геннадьевич

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ КИСТ ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

14.01.01 – Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:
д.м.н., профессор, академик РАН
Л.В. Адамян
д.м.н., профессор
А.И. Щеголев

Москва, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
Актуальность темы исследования 4
Степень разработанности темы исследования 5
Научная новизна 6
Практическая значимость 7
Положения, выносимые на защиту 7
Глава 1 ЭНДОМЕТРИОЗ ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (обзор литературы) 11
1.1 Распространенность эндометриоза 11
1.2 Диагностика эндометриоза 13
1.3 Патогенез эндометриоза 14
1.4 Снижение овариального резерва у пациенток с эндометриозом 19
1.5 Способы оценки овариального резерва 23
1.6 Подходы к хирургической тактике при лечении эндометриоза и влияние оперативного лечения на овариальный резерв 28
1.7 Иммуногистохимические маркеры эндометриоза 30
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 34
2.1 Дизайн исследования 34
2.2 Методы исследования 36
2.2.1 Клинические методы исследования 36
2.2.2 Специальные и инструментальные методы исследования 38
2.2.3 Комплексное морфологическое исследование 40
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 45
3.1 Клиническая характеристика групп 45
3.3 Результаты иммуногистохимического исследования уровня эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, KI67 и MGMT в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с эндометриоидными кистами яичников 61

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 80
ВЫВОДЫ 97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 100
Список сокращений 103
Список литературы 104

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Эндометриоз в настоящее время является одной из главных медико-социальных проблем, приобретающей особую актуальность в свете реализации национального проекта «Здоровье». Классификация эндометриоза основывается на его клинико-морфологических особенностях и подробно приведена в клинических рекомендациях по эндометриозу [1, 2].

Эндометриоидные поражения яичников относятся к одной из наиболее часто встречающихся форм в структуре эндометриоза [3]. Это дисгормональное, иммунозависимое и генетически детерминированное заболевание, выявляемое у 10-15% женщин репродуктивного возраста, 30-50% которых бесплодны [1, 4]. Существующие возможности хирургического и медикаментозного лечения эндометриоза помогают получить долгожданную беременность лишь у 30-33% пациенток [1].

Интерес к эндометриозу объединяет врачей различных специальностей, а именно акушеров-гинекологов, общих хирургов, морфологов, эндокринологов, врачей-эндоскопистов [1]. Диагноз эндометриоз ставится только на основании клинико-анамнестических, эндоскопических данных, в совокупности с морфологическим подтверждением. Отмечается высокая частота сочетания эндометриоза яичников с гиперплазией эндометрия, выявленная при морфологии соскобов из матки, особенно выражено в группе больных с рецидивирующим эндометриозом. Ранее проведенные исследования подтвердили патогенетическую взаимосвязь между эндометриозом и гиперплазией эндометрия на основании общности молекулярно-биологических показателей [5].

Все вышеизложенное определяет актуальность и перспективность темы, включающей в себя выбор тактики лечения, прогнозирования и

реабилитации женщин после хирургического лечения, основанных на комплексе клинико-лабораторного и иммуногистохимического исследований.

Степень разработанности темы исследования

Большинство авторов отмечают более низкие результаты лечения при использовании методов ВРТ у женщин с эндометриозом в сравнении с другими факторами бесплодия [6, 7]. Однако состояние фолликулярной системы яичников женщин при эндометриозе пока остается недостаточно изученным. В течение последнего десятилетия опубликованы результаты многочисленных исследований, посвященных оценке овариального резерва после хирургического вмешательства на яичниках [8–11].

Распространенность эндометриоза у женщин репродуктивного возраста, сложность выбора методов эффективного лечения, рецидивирующее течение заболевания побуждают не только к теоретическому изучению патогенетических механизмов заболевания, но и к поиску доступных, эффективных и, вместе с тем, низко затратных диагностических и прогностических тестов, целесообразных для применения в клинической практике.

Цель исследования

Повышение эффективности лечения больных с эндометриоидными кистами яичников на основании изучения клинико-лабораторных данных пациенток и иммуногистохимических характеристик эндометриоидных кист яичников для прогнозирования развития послеоперационного низкого овариального резерва.

Задачи исследования

1. Оценить овариальный резерв на дооперационном и послеоперационном этапах у пациенток с эндометриоидными кистами яичников.
2. Определить диагностическую и прогностическую значимость клинико-лабораторных данных до и после хирургического лечения больных с эндометриоидными кистами яичников в отношении развития низкого овариального резерва.
3. Изучить морфологические особенности эндометриоидных кист яичников (методом иммуногистохимии) с учетом стадии заболевания.
4. Исследовать иммуногистохимический профиль эндометриоидных кист яичников у пациенток с развитием послеоперационного низкого овариального резерва.
5. Разработать модель прогнозирования и шкалу оценки риска развития низкого овариального резерва после операции у пациенток с эндометриоидными кистами яичников.

Научная новизна

Была выявлены факторы риска развития послеоперационного низкого овариального резерва у пациенток с эндометриоидными кистами яичников с учетом стадии заболевания.

Были определены пороговые значения выявленных факторов риска развития послеоперационного низкого овариального резерва у пациенток с эндометриоидными кистами яичников.

Были изучены клинико-морфологические особенности и иммуногистохимический профиль эндометриоидных кист яичников с учетом клинической активности заболевания и снижения овариального резерва в послеоперационном периоде.

Практическая значимость

На основании выявленных факторов риска развития послеоперационного низкого овариального резерва разработана модель прогнозирования данного осложнения в зависимости от предоперационного уровня АМГ и суммарного диаметра эндометриоидных кист яичников.

На основании выявленных факторов риска развития послеоперационного низкого овариального резерва разработана шкала оценки риска развития данного осложнения у пациенток с эндометриоидными кистами яичников и определены критерии низкого, среднего и высокого риска.

У пациенток группы высокого риска развития послеоперационного низкого овариального резерва предложены меры по снижению риска его развития и увеличению вероятности реализации репродуктивной функции.

Положения, выносимые на защиту

1. Пациентки с более выраженными стадиями эндометриоидных кист яичников (III-IV стадиями) по сравнению с пациентками с I-II стадиями имеют в 7 раз более высокие шансы развития низкого овариального резерва в послеоперационном периоде в результате большего снижения объема яичников вследствие операции и более частого применения операционной техники в виде иссечения, а не коагуляции очагов эндометриоза.

2. У пациенток с эндометриоидными кистами яичников факторами риска развития послеоперационного низкого овариального резерва являются: III-IV стадия эндометриоза, уровень АМГ до операции <2,50 нг/мл, суммарный диаметр кист яичников ≥7 см, снижение суммарного объема яичников ≥35 см^3, и резекция очагов эндометриоза.

3. В эутопическом эндометрии повышение стадии эндометриоза сопровождается увеличением экспрессии маркера пролиферации Ki-67 и эстрогеновых рецепторов в железах и строме, увеличением экспрессии прогестероновых рецепторов в железах и снижением в строме. В эктопическом эндометрии повышение стадии эндометриоза сопровождается увеличением экспрессии маркера пролиферации Ki-67, эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в железах и строме, снижением экспрессии MGMT в ядрах желез и повышением экспрессии MGMT в ядрах и цитоплазме стромальных клеток, что является одним из звеньев патогенеза эндометриоза.

4. У пациенток с последующим развитием послеоперационного низкого овариального резерва в эутопическом эндометрии в железах снижается экспрессия эстрогеновых, прогестероновых рецепторов, маркера пролиферации Ki-67 и MGMT, в строме - снижается экспрессия эстрогеновых рецепторов и повышается экспрессия прогестероновых рецепторов и MGMT. В эктопическом эндометрии в железах снижается экспрессия маркера пролиферации Ki-67 и экспрессия MGMT в цитоплазме эпителия желез, и повышается экспрессия MGMT в ядрах железистых клеток, в строме – повышается экспрессия эстрогеновых рецепторов и снижается экспрессия прогестероновых рецепторов и MGMT в ядрах и цитоплазме стромальных клеток по сравнению с пациентками с нормальным овариальным резервом.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в определении тематики научной работы и ее методологической структуры, формулировке цели и задач, обобщении, анализе, статистической обработке полученных результатов, самостоятельно осуществлял обследование пациенток, участвовал в операциях в качестве ассистента, проводил медикаментозное лечение и реабилитацию больных в послеоперационном периоде. Автор выполнял анализ данных, полученных при проведении иммуногистохимического исследования.

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 паспорта акушерства и гинекологии.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность выполненного исследования определяется достаточным количеством пациенток, включенных в исследование (114 пациенток), применением современных методов обследования пациенток и статистической обработки данных.

Апробация работы

Апробация диссертации была проведена на межклинической конференции и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Внедрение результатов работы в практику

Материалы диссертационного исследования используются в практике отделения оперативной гинекологии (заведующий академик РАН, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ Л.В. Адамян), в патологоанатомическом отделении (заведующий д.б.н., профессор А.И. Щеголев) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Материалы и результаты исследования включены в лекции и практические занятия для клинических ординаторов и аспирантов ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. По теме диссертации опубликованы 3 печатные работы в журналах, рекомендуемых ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа представлена на 125 страниц, иллюстрирована 28 рисунками, 25 таблицами. Библиографический указатель включает 179 работ на русском и английском языках.

Глава 1 ЭНДОМЕТРИОЗ ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (обзор литературы)

1.1 Распространенность эндометриоза

Первое упоминание патологических изменений, свойственных для эндометриоза, было обнаружено в папирусах древнего Египта. В научной литературе история эндометриоза насчитывает почти 150 лет, и тем не менее это заболевание до сих пор остаётся недостаточно изученным [1]. Эндометриоз – прогрессирующее мультифакториальное, дисгормональное, генетически обусловленное, иммунозависимое заболевание, характеризующееся доброкачественным разрастанием ткани, фенотипически, генотипически и функционально близкой эндометрию, за пределами слизистой оболочки матки [12]. Трудности ведения пациенток с эндометриозом связаны с крайней вариабельностью клинической картиной заболевания и тяжестью его течения. Эндометриоз классифицируют на аденомиоз, локализованный в теле матки, и наружный эндометриоз, располагающийся вне матки [1]. Несмотря на кажущуюся схожесть эндометриоидных гетеротопий и нормального эндометрия, молекулярно-генетический профиль этой ткани значительно отличается от такового в нормальном эндометрии, что обуславливает распространение очагов эндометриоза, его склонность к прогрессированию и инвазии (3,4). Проникновение в окружающие ткани с их последующей деструкцией, отсутствие вокруг очага соединительнотканной капсулы и тенденция к метастазированию сближает это заболевание с опухолевым процессом [1, 15].

Эндометриоз входит в пятерку самых распространенных гинекологических заболеваний, наряду с такими значимыми патологиями как бесплодие, доброкачественная патология шейки матки, нарушения

менструального цикла, воспалительные заболевания органов малого таза [1, 16, 17]. По различным данным, эндометриоз диагностируется у 6-10% женщин репродуктивного возраста, что превышает 175 миллионов женщин [17]. В структуре женщин, страдающих бесплодием или имеющих симптомы хронической тазовой боли, распространенность эндометриозом составляет от 30 до 50% [18]. Заболеваемость эндометриозом неуклонно увеличивается, и в настоящее время эндометриоз занимает 3-е место среди заболеваний, требующих госпитализации. Наиболее часто эндометриоз поражает пациенток от 26 до 35 лет, однако изредка встречается и в постменопаузальном возрасте. Среди всех причин бесплодия эндометриоз занимает второе место после воспалительных заболеваний органов малого таза [6, 16].

Поскольку в 10-15% случаев эндометриоз может поражать смежные органы малого таза, эта проблема актуальна не только для гинекологов, но также важна для общих хирургов, урологов и врачей другой специальности [17, 19]. Причина бесплодия при эндометриозе не совсем ясна и остается важным дискуссионным вопросом в гинекологии. Важную роль отводят: провоспалительным цитокинам, характерному спаечному процессу, а также измененной анатомии и топографии органов малого таза [18, 20].

Среди всех локализаций эндометриозу яичников отводится особое значение по ряду причин: во-первых, в структуре всех локализаций эндометриоидных гетеротопий именно эндометриоз яичников стабильно занимает первое место; во-вторых, предполагается, что эндометриоз яичников играет ведущую роль в генерализации патологического процесса – очаги, расположенные в яичнике, с наибольшей вероятностью могут приводить к распространению эндометриоза на соседние органы и окружающую брюшину, способствуя развитию глубокого инфильтративного эндометриоза и, соответственно, спаечного процесса в полости малого таза

[21–23]. Наконец, с позиций онкологической настороженности именно эндометриоз яичников представляет максимальный риск для озлокачествления [22].

1.2 Диагностика эндометриоза

Первые клинические проявления эндометриоза – характерные боли внизу живота, как правило, возникают задолго до постановки верного диагноза. Более чем в половине случаев возраст, в котором происходит клиническая манифестация заболевания не превышает 25 лет [24]. Согласно данным мировой литературы, эндометриоз диагностируют в среднем через 7 лет после появления первых клинических симптомов заболевания, согласно данным отечественной литературы – через 7-12 лет, что не позволяет говорить о раннем лечении эндометриоза [24, 25]. Это, в первую очередь, может быть связано с низкой обращаемостью женщин к медицинскому персоналу. Подавляющее большинство женщин не считают болевые ощущения поводом для обращения к специалисту, отдавая предпочтению приему нестероидных противовоспалительных средств или анальгетиков других групп. Отсутствие традиции регулярного посещения врача-гинеколога, особенно в раннем репродуктивном возрасте, также приводит к отсроченной диагностике эндометриоза. Кроме того, даже при обращении к врачу, первые симптомы эндометриоза весьма неспецифичны, в связи с чем, нередко диагностируются другие (сочетанные) заболевания, в том числе воспалительные заболевания органов малого таза, заболевания желудочно-кишечного тракта, а эндометриоз, как истинная причина возникновения данной симптоматики, остается не диагностирован [24, 25].

Первым этапом диагностики эндометриоза является анализ жалоб пациентки и гинекологический осмотр. Бимануальное гинекологическое

обследование дает возможность выявить опухолевидное образование придатков матки и ретроцервикальной области, определить болезненность стенок малого таза [26]. Эндометриоз влагалищной части шейки матки, слизистой оболочки дистальной части канала шейки матки может быть выявлен при кольпоскопии. Полученные данные позволяют заподозрить наличие эндометриоза, для верификации диагноза требуется гистологическое подтверждение [27]. Ультразвуковое исследование, как правило, недостаточно информативно в диагностике эндометриоза, особенно инфильтративных форм, а также зачастую требует проведения дифференциальной диагностики с другой патологией органов малого таза и кистозными изменениями яичников другой этиологии [27, 28]. Возможно использование спиральной компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии [29], однако для верификации диагноза необходимо лапароскопическое исследование с биопсией и гистологическим исследованием подозрительных очагов [1]. Однако, лапароскопия – дорогостоящая и весьма инвазивная процедура, поэтому в последнее время всё большее внимание уделяется поиску новых способов неинвазивной диагностики эндометриоза, особенно на ранних его стадиях – до появления клинических признаков. Также проведено большое количество исследований по определению маркеров для предикции течения эндометриоза и развития его рецидивов [26, 30–32].

1.3 Патогенез эндометриоза

Патофизиологические аспекты эндометриоза ассоциированы с хроническим воспалением и нарушением других физиологических процессов: ускоренной клеточной адгезией, пролиферацией, инвазией, ангиогенезом, деградацией экстрацеллюлярного матрикса, нарушением

процессов апоптоза, оксидативного стресса, повышенной выработки стероидных гормонов и другими механизмами [33]. В результате различных данных регуляций эндометриальные клетки утрачивают возможность к адекватной пролиферации. Исследователи предлагают различные концепции развития эндометриоза, каждая из которых отчасти объясняет этиологию и патогенез патологического процесса, однако концепции, которая в полной мере объяснила бы сущность эндометриоза, к сожалению, не существует.

Существуют три основных теории возникновения эндометриоза: формирование *in situ*, концепция целомической метаплазии, имплантационная теория [1, 34, 35]. Согласно теории возникновения *in situ*, эндометриоз возникает в месте своей последующей локализации из остаточных мюллеровых каналов или вольфовых протоков, либо в результате метаплазии яичниковой ткани под действием воспаления и нарушения гормонального статуса. Эта теория позволяет объяснить возникновение эндометриоза любой локализации, однако эта теория не была подтверждена ни в клинической практике, ни в эксперименте.

Теория целомической метаплазии была предложена Н.С. Ивановым ещё в 1897 году и доработана R. M. Mayer в 1919 году. Они обратили внимание на то, что эпителий тазовой брюшины, герминативный эпителий яичников и мюллеровы протоки происходят из целомического эпителия [34, 36]. Согласно теории целомической метаплазии, мезотелий брюшины и плевры, а также целый ряд других тканей могут превращаться в эндометриоидную ткань под влиянием повреждения инфекционного и воспалительного характера, гормональных нарушений и некоторых других стимулов [34, 36]. Эта теория, в отличие от теории ретроградной менструации, объясняет возникновение эндометриоидных очагов у девочек-подростков и женщин с первичной аменореей, а также в нетипичных местах, таких как плевра, слизистая глаз и ротовой полости. Несмотря на это, не

было получено экспериментальных или клинических данных, которые могли бы однозначно подтвердить или опровергнуть эту теорию.

Основной теорией возникновения эндометриоза на данный момент является имплантационная теория (теория ретроградной менструации), которая была предложена J.A. Sampson в 1927 году. Согласно этой теории, эндометриоз развивается в результате попадания в брюшную полость клеток эндометрия при ретроградной менструации. В дальнейшем происходит их прикрепление к органам малого таза, пролиферация и инвазия [37]. Однако, у этой теории имеется ряд недостатков. Стоит обратить внимание и на следующий факт: ретроградные менструации имеют место более чем у 90% женщин с проходимыми маточными трубами. Тем не менее, эндометриоз развивается только у 5-10% из них [34, 35, 38]. Кроме того, в норме происходит элиминация клеток эндометрия из брюшной полости под действием иммунной системы. Таким образом, одним из предрасполагающих факторов развития эндометриоза являются дефекты функционирования иммунной системы в результате абсолютного (связанного с нарушениями иммунитета) или относительного (связанными с повышением агрессивности эндометриоидных клеток) снижения защитных свойств брюшины, определяющего способность клеток эндометрия к имплантации и инвазии [34, 38].

Согласно современным представлениям о патогенезе эндометриоза, его источником являются клетки эндометрия, характеризующиеся рядом патологических изменений, несвойственных нормальному эндометрию: низким уровнем апоптоза; высокой пролиферативной, инвазивной и проангиогенной активностью, что способствует выживанию регургитрованных клеток эндометрия, обеспечивает их адгезию и инвазию, приводя к развитию эндометриоза [34–36]. Но только лишь патологии эндометрия недостаточно для развития заболевания – другой стороной

патогенеза являются нарушения гормональной и иммунной систем. В ряде исследований при обследовании пациенток с эндометриозом были показаны не только гормональные и иммунологические нарушения, но и эффективность проводимой гормональной и иммуномодулирующей терапии, что является прямым подтверждением данной концепции [36, 38, 39].

Эндометриальные клетки, попадающие в брюшную полость при ретроградной менструации, могут непрерывно экспрессировать молекулы, вовлеченные в инвазию и миграцию, приводя к развитию эндометриоза. Становится логичной следующая концепция развития генитального эндометриоза: эндометриоидные клетки попадают в брюшную полость и фиксируются на внеклеточном матриксе за счет молекул адгезии и экспрессии интегринов [40]. Показано повышение экспрессии ITGB2, ITGB7, CD24 и ряда других белков адгезии и инвазии в эутопическом эндометрии пациенток с эндометриозом [13]. Авторы показали различную экспрессию белков адгезии, прикрепления и инвазии в пролиферативном и секреторном эндометрии, а также в очагах эндометриоза от контрольной группы и пациентов с эндометриозом. Это исследование предполагает, что у молекул с этими свойствами может быть роль в прикреплении эндометриальных клеток на эктопических местах, таким образом, давая начало развитию эндометриоза [13]. Следом за прикреплением следует инвазия патологических клеток эндометрия в окружающие ткани под действием матриксных металлопротеиназ (ММП) с последующей пролиферацией клеток и формированием эндометриоидных гетеротопий за счет секреции факторов роста, проангиогенных факторов и стероидных гормонов. В частности, в развитии эндометриоза показана роль проангиогенного фактора VEGF и ММП 1, 2, 3, 7, 9 и 10. Стоит отдельно отметить, что уровень металлопротеиназ возрастает при распространении заболевания и увеличении степени его тяжести [14, 41–48]. Завершающим этапом является

репарация поврежденной ткани, которая может протекать по типу субституции, приводя к фиброзу ткани и формированию спаек [33, 38, 49].

Не стоит недооценивать роль воспаления в патогенезе эндометриоза. По данным ряда исследований, важную роль в развитии эндометриоза играют брюшинные лейкоциты, макрофаги и дендритные клетки, секретирующие целый спектр провоспалительных факторов и цитокинов (PGE2, TNF-α, IL-1, -6, -8, -15), участвующих также в регуляции активности ММП и активации ангиогенеза [37, 50–53]. Это приводит к образованию локального микроокружения, которое способствует развитию и прогрессированию эндометриоза. Предполагается также возможность аутоиммунной агрессии при развитии эндометриоза, показаны некоторые сходства изменению иммунного статуса при эндометриозе и аутоиммунных заболеваниях, однако в литературе до сих пор нет однозначного мнения по этому поводу [51, 54].

Весьма значительную роль в развитии эндометриоза играют нарушения биосинтеза стероидных гормонов. В очагах эндометриоза, по сравнению с нормальным эндометрием, показано повышение экспрессии генов 17-β гидроксистероиддегидрогеназы, эстроген-сульфатазы и 3β- гидроксистероид дегидрогеназы – основных ферментов, участвующих в биосинтезе эстрогенов [55–58]. Кроме того, показано повышение активности аромотазы под действием PGE2 и цАМФ в клетках стромы эндометриоидных гетеротопий [53, 59].

В последнее время всё больше обсуждается роль эпигенетических факторов, таких как метилирование ДНК, в нарушении метаболизма гормонов и развитии эндометриоза. Так, деметилирование ДНК промотерного региона гена SF-1 может приводить к повышению уровня транскрипции SF-1 в эндометриоидных стромальных клетках, что приводит к увееличению продукции эстрогенов [60, 61]. Другим важным

эпигенетическим механизмом развития эндометриоза может являться гиперметиляция «гена домашнего хозяйства» HOXA10, приводящая к снижению его экспрессии в эутопическом эндометрии у пациенток с эндометриозом. Учитывая особую роль гена HOXA10 в регуляции молекулярных и морфологических маркеры, экспрессируемых в период «окна имплантации», а также в регуляции морфогенеза и дифференцировки тканей эмбриона, особого внимания заслуживает оценка метилирования и экспрессии гена HOXA10 у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием [62, 63].

Большая часть литературных данных о патогенезе эндометриоза основывается на поиске отличий между эутопическим и эктопическим эндометрием при эндометриозе и у здоровой женщины. Понимание этих отличий важно не только с точки зрения патогенеза развития эндометриоза, но и с точки зрения поиска новых подходов к лечению эндометриоза, поэтому для успешной терапии данного заболевания требуются дополнительные исследования в данной области.

1.4 Снижение овариального резерва у пациенток с эндометриозом

Термином «овариальный резерв» обозначают функциональный запас яичника, определяющий его способность к формированию полноценного фолликула с функционально зрелой яйцеклеткой. Овариальный резерв отражает количество фолликулов, находящихся в яичниках, и зависит от ряда физиологических и патологических факторов. Возраст женщины является одним из основных естественных факторов, приводящих к снижению овариального резерва [64]. Принадлежность к определенной этнической группе также может влиять на овариальный резерв: женщины из Индии, Юго-Восточной Азии, стран Карибского бассейна, Китая и Латинской

Америки имеют более низкий овариальный резерв, по сравнению с женщинами того же возраста европейской расы и Кавказа [65–67]. К патологическим факторам, приводящим к снижению овариального резерва, относятся: эндометриоидные кисты яичников, инфекции органов малого таза, такие как, хламидиоз и генитальный туберкулез [68], хирургические вмешательства на яичниках, химио- и радиотерапия органов малого таза [69], избыточная масса тела [70] и курение [71]. Нельзя недооценивать роль интоксикации антропогенными химическими веществами, которые используются в промышленности и сельском хозяйстве [72, 73].

У 17-44% пациенток, страдающих наружным генитальным эндометриозом, выявляются эндометриоидные кисты яичников (ЭКЯ) [10]. Данная патология требует особого внимания, поскольку до 40% пациенток с ЭКЯ сталкиваются с проблемой бесплодия. Несмотря на обширность научных исследований в данной области, механизмы влияния эндометриоза на репродуктивную функцию женщин изучены недостаточно [74, 75]. В настоящее время основной причиной бесплодия у женщин с эндометриоидными кистами яичников считается сокращение овариального резерва [76], который в первую очередь, отражает количество фолликулов, содержащихся в яичниках.

Существует множество механизмов, которые могут приводить к выраженному снижению овариального резерва при ЭКЯ. Еще в 1957 году были описаны признаки метаплазии и дезорганизации в ткани коркового слоя яичника, располагающейся вблизи ЭКЯ. Стоит также отметить, что эндометриоидные кисты яичников окружены барьером из фиброзной ткани, которая, как известно, имеет бедное кровоснабжение [77]. Недавние исследования показали, что эндометриоидная жидкость содержит целый ряд провоспалительных цитокинов и токсических веществ, таких как активные формы кислорода [78, 79]. Эти вещества вызывают фиброз в окружающих

кисту тканях яичника, что приводит к снижению ангиогенеза и количества стромальных клеток в корковом слое яичника [80]. Снижение васкуляризации при ЭКЯ, в свою очередь, может привести к ухудшению кровоснабжения фолликулов и их атрезии. При эндометриозе происходит ускорение роста фолликулов в корковом слое яичника с последующим истощением антрального пула и снижением количества фолликулов. Эта теория была предложена Dolmas M.M. и соавт. в 2007 г [81] и подтверждена в исследованиях Kitajiama M. и соавт. (2014 г). Ими было выявлено значительное увеличение процентного содержания первичных фолликулов в корковом слое яичника с ЭКЯ, по сравнению с интактным яичником. Было установлено, что в яичниках с эндометриоидными кистами может происходить раннее развитие фолликулов, увеличение количества атрезированных фолликулов, нарушение регуляции отбора фолликулов и их созревания, в результате чего исчерпывается пул примордиальных фолликулов [82].

В свою очередь, группой отечественных исследователей было высказано предположение о нарушении фолликулогенеза вследствие воспаления и фиброза ткани со сниженной васкуляризацией и повышенным уровнем оксидативного стресса в корковом слое яичников при эндометриоидных кистах, приводят к нарушению фолликулогенеза. В работах Адамян Л.В. и соавт. было показано нарушение фолликулогенеза яичников женщин с эндометриозом, что проявлялось снижением общего числа фолликулов всех стадий развития. У пациенток с ЭКЯ выявлено резкое снижение пула примордиальных фолликулов и числа растущих фолликулов. Была выявлена прямая зависимость между выраженностью уменьшения числа фолликулов и стадии распространения эндометриоза, а также возрастом пациентки [83, 84]. Помимо всего вышеперечисленного, в качестве возможных причин бесплодия при ЭКЯ также рассматриваются дегенерация

ооцитов, дистрофические процессы клеток гранулезы, сопровождающиеся повышением апоптотического индекса, изменение состава фолликулярной жидкости [85].

Эндометриоидные клетки секретируют исключительно высокие уровни цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-13, ФНО-α) и хемокинов (ИЛ-8, MCP-1), которые могут вызвать активацию клеток гранулезы и преждевременную активацию фолликулов, приводящую к последующему снижению их количества [86]. Повышение содержания вышеуказанных молекул приводит к раннему запуску роста фолликулов за счет активации ряда медиаторных каскадов в фолликулярных клетках с вовлечением следующих регуляторных путей: циклический аденозинмонофосфат/протеинкиназа А (cAMP/PKA), тирозинкиназа типа Янус/сигнал-преобразователя и активатора транскрипции (JAK/STAT), ядерный фактор kappa B (NFkB), фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и изменения внутриклеточного уровня кальция – важнейшего регулятора апоптоза и пролиферативной активности клетки [86, 87].

Большинство авторов отмечают более выраженное снижение эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) у женщин с генитальным эндометриозом, по сравнению с пациентками с другими факторами бесплодия. Это связывают с более низким качеством ооцитов, снижением частоты их оплодотворения и качества эмбрионов, а также со снижением частоты имплантации [7]. Ряд авторов отмечают, что у пациенток с эндометриозом яичников нарушаются процессы оплодотворения ооцитов и страдает преимплантационное развитие эмбрионов – снижается число бластомеров, повышается доля эмбрионов, остановившихся в развитии [88, 89]. По всей видимости, снижение потенциала развития эмбрионов пациентки с эндометриозом в первую очередь связано именно с качеством ооцитов, формирующихся в субоптимальных или даже в абсолютно

патологических условиях. В работах отечественных авторов были обнаружены не только количественные, но и качественные нарушения фолликулогенеза у пациенток с эндометриозом яичников [85, 90]. Так, при гистологическом исследовании фрагментов яичников с эндометриоидными кистами было отмечено большое число фолликулов с различными признаками дегенерации, такими как изменение формы и размытые границы фолликула, ооцита и его ядра, фолликулярных клеток; частично деконденсированный хроматин, локализованный по всему ядру; утолщение, расслоение, гиалиноз базальной мембраны фолликула; формирование межклеточных пространств; крупные вакуоли в ооплазме; дезорганизация клеток гранулезы и др. [90].

Ускорить процесс истощения фолликулярного аппарата яичников и привести к раннему наступлению менопаузы могут также некоторые экзогенные причины, в том числе – оперативные вмешательства на матке и придатках. Хирургические вмешательства по поводу эндометриоидных кист яичников напрямую связаны с риском уменьшения их резерва [91, 92]. При сравнении влияния плазменной и электрохирургической энергий на овариальный резерв у больных с эндометриоидными кистами яичников было показано, что резекция кисты яичника вместе с капсулой сопровождается более выраженным снижением количества антральных фолликулов, чем резекция яичника с последующей электрокоагуляцией капсулы кисты яичника с помощью плазменной энергии [23]. В связи с возрастающим числом исследований в этой области, особенно актуальным становится поиск адекватных критериев оценки уровня овариального резерва и предикции его изменения после того или иного, в том числе – оперативного, вмешательства.

1.5 Способы оценки овариального резерва

Эндометриоидные кисты яичников могут привести к снижению овариального резерва ещё до хирургического вмешательства, поэтому при проведении оперативного лечения важным аспектом является изучение состояния овариального резерва до операции. Это позволит оценить степень повреждения ткани яичников, выработать индивидуальную тактику ведения женщин с ЭКЯ и восстановить репродуктивную функцию данных пациенток после операции. Состояние овариального резерва в клинической практике можно оценить по возрасту женщины, концентрации фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), ингибина В, эстрадиола (Е2), антимюллерова гормона, а также ультразвуковых критериев: числа антральных фолликулов, объема яичников, функциональных показателей внутрияичникового кровотока [93, 94]. Согласно данным последних исследований, скорость деградации фолликулов удваивается, когда примордиальный пул сокращается до 25000 фолликулов, что в среднем соответствует возрасту 37,5 лет. Этот возраст определяется как критический в отношении снижения овариального резерва [95, 96].

Первоначально в качестве гормонального теста для определения овариального резерва было предложено использовать определение уровня ФСГ на 2-3-й дни менструального цикла [93]. Однако, уровень ФСГ может значительно изменяться не только в течение менструального цикла, но и между двумя циклами, поэтому дальнейшие исследования были направлены на поиск более постоянных гормональных маркеров [97]. В дальнейших исследованиях было выявлено, что ведущую роль в регулировании уровня ФСГ в начале менструального цикла играет ингибин В – белок, который вырабатывается клетками Сертоли и играет важную роль в регуляции фолликулогенеза. Ингибин В вырабатывается клетками гранулезы растущих антральных фолликулов и играет основную роль в поддержании уровня ФСГ в начале менструального цикла [8]. Выяснилось, что при снижении

овариального резерва снижение уровня ингибина В в начале менструального цикла отражает снижение пула малых антральных фолликулов и вызывает критический рост концентрации ФСГ, что приводит к быстрому росту доминантного фолликула и ранней овуляции [98].

Важная роль в оценке овариального резерва принадлежит ультразвуковому исследованию на 2-5-й дни менструального цикла, главной целью которого является определение объема яичника. Объем яичника менее 3 кубических сантиметров указывает на снижение овариального резерва [99]. Однако более точным методом оценки овариального резерва считается подсчет числа антральных фолликулов. Согласно мнению ряда исследователей, можно выделить 3 группы яичников женщины в зависимости от данного показателя: неактивные (менее 5 фолликулов), нормальные (5-15 фолликулов) и поликистозные (более 15 фолликулов) [8, 99]. Крайне важным также является определение доплерометрических показателей, поскольку для нормального функционирования фолликулярного аппарата необходимо нормальное кровоснабжение яичника. Одним из основных допплерометрических критериев, позволяющих прогнозировать ответ яичников на стимуляцию, является пиковая систолическая скорость (ПСС) кровотока в сосудах стромы яичника. Группой Baker S et al., было выявлено двукратное снижение средней ПСС стромальных артерий на 2-3-й день цикла при недостаточном ответе яичников на стимуляцию овуляции. Отмечено также повышение пульсационного индекса (ПИ) и индекса резистентности (ИР) перифолликулярных сосудов яичников в группе пациенток с низким ответом на стимуляцию овуляции и нормальным уровнем ФСГ [100].

Наиболее точным количественным методом оценки овариального резерва на данный момент считается определение уровня антимюллерова гормона (АМГ) [101]. АМГ играет принципиальную роль в морфогенезе у

мужчин: синтезируясь в клетках Сертоли, он вызывает регрессию органов мюллерова протока (маточных труб, матки и верхней части влагалища). Вырабатываясь же клетками гранулезы растущих фолликулов в яичниках женщины, АМГ отвечает за активацию покоящихся примордиальных фолликулов, а также за отбор чувствительных к ФСГ фолликулов на ранней антральной стадии. Определение уровня АМГ позволяет получить информацию о процессах фолликулогенеза и оценить число растущих фолликулов, снижение его уровня свидетельствует об уменьшении овариального резерва [94]. Одним из преимуществ оценки уровня АМГ является его стабильность в течение одного менструального цикла, что выгодно отличает этот метод от оценки уровней фолликулостимулирующего гормона и ингибина В [92]. Кроме того, метод имеет высокую чувствительность при оценке овариального резерва у женщин всех возрастных групп, вплоть до момента полного истощения пула примордиальных фолликулов [102–104]. Поэтому многие исследователи применяют количественную оценку уровня сывороточного АМГ для определения степени повреждения яичников, вызванного операцией или химиотерапией [94].

Четкие критерии определения сниженного овариального были разработаны Европейским обществом по вопросам репродукции человека и эмбриологии (European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE) в 2011 году и были названы «болонскими критериями» [105]. Согласно этим критериям, основанием для постановки данного диагноза являются два из трех критериев: возраст пациентки 40 лет и более; плохой ответ яичников на стимуляцию овуляции – получение трех и менее ооцитов; низкий уровень АМГ – менее 1,1 нг/мл или снижение количества антральных фолликулов менее 5 по данным ультразвукового исследования. Таким образом, у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами

яичников на этапе до хирургического лечения только комплексное исследование показателей овариального резерва дает возможность адекватно оценить степень снижения овариального резерва и выработать правильных подход к лечению данных пациенток.

Неоднозначно мнение исследователей по поводу влияния эндометриоидных кист яичников на изменение уровня АМГ. В ряде исследований уровень АМГ у большинства пациентов с эндометриозом яичников не отличался от группы контроля [9, 106]. По данным других авторов, уровень АМГ у пациенток с эндометриозом яичников достоверно снижается [107], при чем при двусторонних эндометриоидных образованиях яичников снижение уровня АМГ носит более выраженный характер, чем при односторонних [108]. Несмотря на то, что уровень АМГ на данный момент считается наиболее точным показателем, отражающим состояние овариального резерва, данные исследования диктуют необходимость поиска более точных маркеров состояния овариального резерва. Одним из новых неинвазивных методов диагностики эндометриоза и определения овариального резерва может стать измерение уровня ряда микро-РНК – малых некодирующих молекул РНК, принимающих участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов [109]. Выделены основные микро-РНК, определение которых может быть полезным при диагностике эндометриоза. Это в основном микро-РНК, отвечающие за ангиогенез и пролиферацию эндометриоидных клеток за счет изменения экспрессии таких факторов роста как, например, сосудистый эндотелиальный фактор роста-А (VEGF-A) и тромбоспондин-1 (TSP-1) [110–112]. С точки зрения определения овариального резерва актуальным является определения тех микро-РНК, которые экспрессируются в яичниках, участвуя в регуляции роста и развития фолликулов [113, 114]. Не смотря на значительный прогресс, наблюдаемый в последние годы в исследовании

инновациооных способов оценки и прогнозирования уровня овариального резерва, необходимо помнить, что определение уровня АМГ всё ещё является основным методом, который следует использовать в клинической практике врача акушера-гинеколога с этой целью.

1.6 Подходы к хирургической тактике при лечении эндометриоза и влияние оперативного лечения на овариальный резерв

Как правило, эндометриоз яичников сопровождается формированием кистозных образований – эндометриоидных кист (эндометриом), которые в большинстве наблюдений являются показанием для хирургического лечения [1, 21]. Одна из основных сложностей цистэктомии при эндометриоидных кистах яичников вызвана наличием плотных субэпителиальных сращений между капсулой кисты и воротами яичников – места прохождения основных кровеносных и лимфатических сосудов, питающих яичник [115]. При этом методом выбора хирургического доступа по праву считается лапароскопия, а вопрос об оптимальном методе гемостаза при этих новообразованиях остается одним из наиболее актуальных и спорных. Актуальность данного вопроса объясняется высоким риском повреждения фолликулярного аппарата яичников вследствие обширной травматизации тканей, обусловленной как полной цистэктомией, так и воздействием высоких хирургических энергий. По данным ряда исследований, спонтанная беременность среди бесплодных женщин с умеренной и тяжелой стадией эндометриоза наступает в 52 – 69% случаев после лапароскопического удаления эндометриоидных поражений [116, 117]. В то же время, влияния хирургического лечения женщин с эндометриоидными кистами яичников на овариальный резерв продолжает активно изучаться. По данным исследования Coccia M.E. и соавт., женщины, перенесшие двустороннюю цистэктомию

вступали в климактерический период в среднем на пять лет раньше, чем те, кто перенес одностороннюю цистэктомию [118]. Особенно актуальным в последнее время становится длительное наблюдение за изменениями овариального резерва пациенток, перенесших хирургическое лечение ЭКЯ [119].

Согласно данным ряда авторов, одной из причин снижения овариального резерва в результате оперативного лечения пациенток с эндометриоидными кистами яичника является удаление здоровой или условно здоровой ткани яичника вместе с кистой. При изучении материала, полученного после лапароскопического лечения эндометриоидных кист яичника, было показано наличие большого количества примордиальных фолликулов в стенке кисты [120]. Согласно данным, полученным Kitajima M. и соавт., иссечение здоровой ткани яичника при энуклеации кист приводило к снижению уровня АМГ на 42% от исходного уровня [121], а согласно данным Somigliana E. и соавт., – на 53% [122]. Целесообразность удаления капсулы эндометриоидной кисты яичника при малых размерах кисты (до 30 мм в диаметре) является на данный момент весьма дискуссионным вопросом. Таким образом, при лечении пациенток репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников крайне важно соблюдать принципы микрохирургической операции с учетом возможности щадящею воздействия инструмента и выбором энергии для максимально возможного сохранения овариального резерва пациентки [1]. Тем не менее, при оперативном лечении ЭКЯ нельзя забывать и о принципах абластичности.

Согласно рекомендациям международного общества по эндометриозу, опубликованным в 2013 г, при эндометриоидных кистах яичника небольших размеров рекомендуется выжидательная тактика – лапароскопическую эксцизию ЭКЯ следует проводить при её размерах свыше 4 см в диаметре [123]. Однако, изменения яичниковой ткани, такие как раннее развитие и

атрезия фолликулов и истощение пула примордиальных фолликулов, снижение качества фолликулов, могут наблюдаться даже при размерах эндометриальных кист яичников от 1 до 4 см в диаметре [82], что может являться весомым аргументов против выжидательной тактики ведения пациенток с эндометриоидными кистами яичников. Ранняя диагностика и хирургическое вмешательство может способствовать сохранению репродуктивного потенциала пациенток с эндометриозом. С другой стороны, сложно однозначно сказать, является ли повреждение ткани яичников во время хирургического вмешательства более серьезным, чем повреждение коркового слоя яичников в результате токсического влияния эндометриоидной кисты, или же наоборот.

Спорным остается вопрос о том, какой тип энергии наиболее оправдан с точки зрения сохранения овариального резерва при хирургическом удалении эндометриоидных кист яичников. Известно, что более высокий риск повреждения тканей при использовании монополярной коагуляции, что может быть связано с отсроченным коагулирующим действием при использовании этого типа энергии, а также сложностью оценки глубины воздействия [124]. Более четко контролировать границы деструкции ткани можно при использовании биполярной электрохирургии. Тем не менее, согласно результатам Roman H. et alи соавт., биполярная коагуляция имеет более выраженное отрицательное влияние на состояние овариального резерва, чем плазменная энергии или энергия CO_2-лазера [125]. Тем не менее, выбор техники операции и типа энергии всегда должен осуществляться оперирующим хирургом с учетом степени распространения эндометриоза, размера и количества эндометриоидных кист яичников, возраста пациентки, её репродуктивного и соматического статуса и ряда других факторов.

1.7 Иммуногистохимические маркеры эндометриоза

В последнее время особое внимание уделяется поиску специфических маркеров заболевания, которые могут использоваться не только для дифференциальной диагностики поражения, но и применяться для разработки таргетной терапии заболевания и персонализации противоопухолевого лечения на основании определения чувствительности опухоли к той или иной терапии до начала лечения. В качестве перспективного маркера рассматривается O(6)-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза (MGMT) O(6)-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза (MGMT), осуществляющая прямую репарацию поврежденной ДНК. Иммуногистохимический анализ экспрессии белка MGMT применяется при онкологических патологиях различной локализации [126, 127]. Так, например, низкий уровень метилирования MGMT ассоциирован с высокой выживаемостью пациентов с глиобластомой, прошедших курс лечения телозомидом, а присутствие MGMT при иммуногистохимическом исследовании – с низкой выживаемостью [128]. В другом исследовании не было выявлено изменения метилирования MGMT при раке эндометрия [129]. Предполагается, что повышение экспрессии белка p53 может быть напрямую связано со снижением экспрессии MGMT в опухолевой ткани, в том числе при раке эндометрия [126]. По мнению Furlan D. И соавт., эпигенетическая инактивация MGMT посредством его метилирования может являться одним из ранних событий развития рака эндометрия и яичников и может служить ранним маркером развития данных онкологических заболеваний [130]. Однако, исследования по изучению роли MGMT в патогенезе эндометриоза и возможности его применения в диагностике этого заболевания на настоящий момент отсутствуют.

Ki-67 – ядерный белок, функция которого связана с регуляцией пролиферации клетки. Белок Ki-67 определяется во время митоза и всех

активных фаз цикла клеточного цикла, но не определяется во время фазы G_0, что делает его удобным маркером для определения пролиферационной активности ткани. Показано значительное увеличение экспрессии Ki-67 в строме эутопического эндометрии у больных с эндометриозом яичников, по сравнению с эндометрием здоровых пациенток [131]. Также в ряде исследований продемонстрирована положительную корреляция между уровнем экспрессии маркера пролиферации Ki-67 в эндометриоидной ткани, степенью прогрессии эндометриоза и объемом эндометриоидной кисты яичника [132, 133]. В другом исследовании была обнаружена положительная корреляция средней силы между уровнем Ki-67 при иммуногистохимическом исследовании и сывороточным содержанием онкомаркера CA-125 при эндометриозе III и IV стадии [2]. Согласно данным, полученным Suzuki A. и соавт., экспрессия Ki-67 в эутопическом эндометрии значительно ниже в секреторной фазе цикла, по сравнению с пролиферативной фазой. При этом, экспрессия Ki-67 в эктопическом эндометрии не зависит от фазы менструального цикла. В пролиферативной фазе цикла экспрессия Ki-67 значимо ниже в эктопическом эндометрии, по сравнению с эутопическим эндометрием, в то время как в секреторную фазу эктопический и эутопический эндометрий не различаются по экспрессии Ki-76 [134]. Также нельзя не отметить, что экспрессия Ki-67 в очагах эндометриоза может отличаться в зависимости от их локализации. Так, в исследовании Kim H.O. и соавт. был продемонстрирован более высокий уровень Ki-67 при эндометриозе брюшины и яичников, чем при эндометриозе ректовагинальной перегородки [135].

Повышенный интерес в последнее время вызывает изучение экспрессии рецепторов к эстрогенам (ER) и прогестерону (PR) в ткани эутопического эндометрия при эндометриозе и ткани эндометриоидных гетеротопий. Экспрессия стероидных рецепторов (ER и PR) в эутопическом

эндометрии циклически изменяется во время менструального цикла: повышается в пролиферативной фазе и снижается в секреторной фазе. Исследователи отмечают схожий уровень экспрессии ER и PR в эктопическом и эутопическом эндометрии как в пролиферативную, так и в секреторную фазу менструального цикла [134]. По данным других авторов, экспрессия стероидных рецепторов в эктопическом эндометрии не имеет выраженных динамических изменений в течение менструального цикла. Так, по данным Goteri G. и соавт., экспрессия стероидных рецепторов ниже в эктопическом эндометрии, чем в эутопическом. Более того, по данным этого исследования, экспрессия эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометриальных кистах ниже, чем в эктопическом эндометрии неовариальной локализации и нормальном эндометрии как в пролиферативную, так и в секреторную фазу менструального цикла [136]. Таким образом, данные касательно экспрессии ER и PR в эндометриоидной ткани недостаточны, требуются дальнейшие исследования в этой области для однозначного понимания роли стероидных рецепторов в развитии и распространении эндометриоза. Также может быть оправдан поиск новых иммуногистохимических маркеров, особенно высокоспецифичных для эндометриоидных кист яичников.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

Для решения поставленных задач нами проанализированы результаты комплексного обследования и хирургического лечения 114 пациенток с различной степенью поражения эндометриозом яичников, оперированных с 2015 г. по 2016 г. в отделении оперативной гинекологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель - академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ Л.В. Адамян). Все включенные в исследование пациентки были обследованы согласно приказу Минздрава России №572н от 01.11.2012 г. "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за использованием использования вспомогательных репродуктивных технологий) " [137].

Для решения поставленных задач было проведено проспективное исследование случай-контроль (Рисунок 1).

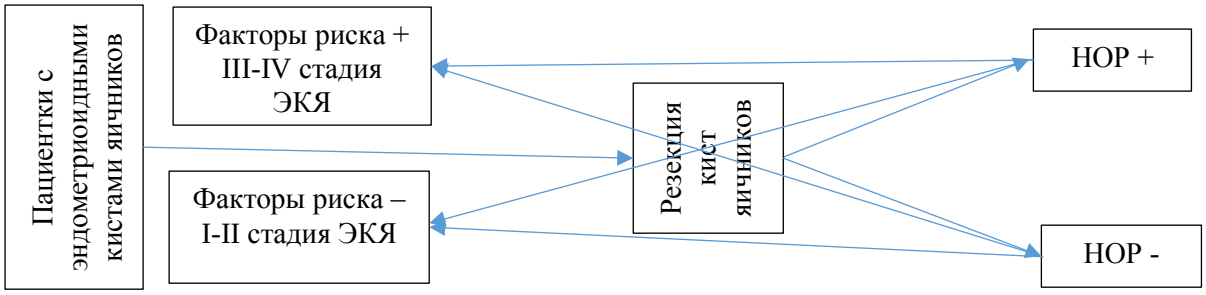

Рисунок 1. Дизайн исследования. НОР – низкий овариальный резерв.

Для решения поставленных задач изначально пациентки были разделены на группы в зависимости от стадии эндометриоза на основании гипотезы о том, что стадия эндометриоза оказывает основное влияние на развитие НОР после операции:

- группа 1 - пациентки с I и II стадией эндометриоидных кист яичников (n=70);
- группа 2 - пациентки с III и IV стадией эндометриоидных кист яичников (n=44).

К I стадии эндометриоидных кист яичников относили мелкие точечные эндометриоидные образования на поверхности яичников без образования кистозных полостей. Ко II стадии эндометриоидных кист яичников относили эндометриоидные кисты яичников размером не более 5-6 см. К III стадии относили эндометриоидные кисты обоих яичников (диаметр кисты одного яичника более 5-6 см и небольшая эндометриоидная киста другого яичника). К IV стадии относили двусторонние кисты яичников больших размеров (более 6 см) с переходом патологического процесса на соседние органы [1].

Критериями включения пациенток в исследование были:

1. Возраст пациенток 18-44 года.
2. Наличие эндометриоидного поражения яичника(ов).
3. Отсутствие гинекологических операций на яичниках в связи с патологией яичников, за исключением эндометриоза в анамнезе.
4. Нормальный овариальный резерв (уровень АМГ до операции 1,2 нг/мл и более).
5. Подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критериями исключения пациенток из исследования были:

1. Наличие злокачественных новообразований в анамнезе.
2. Нарушения менструального цикла в анамнезе.
3. Наличие тяжелой сопутствующей соматической патологии.
4. Наличие гинекологических операций в анамнезе, не связанных с эндометриозом.
5. Наличие заболеваний, сопряженных с репродуктивной функцией.

6. Наличие гормональной терапии в анамнезе.

Критерием НОР считалось снижение антимюллерового гормона (АМГ) менее 1,2 нг/мл [105]. В качестве основного фактора риска НОР рассматривалась стадия эндометриоидных кист яичников. В качестве других факторов риска рассматривались: возраст, длина менструального цикла, уровень АМГ до операции, диаметр кист яичников, проведение билатеральной цистэктомии.

Первичной конечной точкой было $ОШ_{кор}$ развития НОР в зависимости от стадии эндометриоза и других факторов риска.

Объем выборки определялся числом изучаемых факторов риска (предполагалось влияние на развитие НОР 6 предикторов). Принимая во внимание, что максимальное число предикторов, включенных в модель, не должно быть больше, чем число исходов, деленное на значение от 5 до 20, для изучения 6 предикторов достаточно было включить по 30 пациенток в каждую группу, всего - 60 пациенток.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Клинические методы исследования

Изучение анамнестических данных основывалось на анализе особенностей преморбидного фона, перенесенных и сопутствующих гинекологических и экстрагенитальных заболеваний в различные периоды жизни. Особое внимание уделялось изучению специфических функций женского организма: менструальной (возраст менархе, продолжительность менструального цикла и кровянистых выделений), половой и репродуктивной (число беременностей, их течение, исходы). При изучении

настоящего заболевания анализировались жалобы и история развития заболевания.

Клиническое обследование включало традиционные методы: общий осмотр, оценку телосложения и конституциональных особенностей, состояние сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной, эндокринной, мочевыделительной, пищеварительной систем, молочных желез. Гинекологический статус определяли на основании осмотра наружных половых органов, исследовании влагалища и шейки матки в зеркалах, бимануального влагалищного исследования, по показаниям – ректо-вагинального исследования.

Из лабораторных методов исследования нами были использованы: клинический анализ крови, общий анализ мочи, определение групповой принадлежности и резус-фактора, биохимических параметров крови, параметров состояния свертывающей системы крови, теста на ВИЧ-инфекцию и выявление антигенов вирусного гепатита, изучение особенностей электрокардиограммы, рентгенологическое обследование органов грудной клетки, бактериологическое определение флоры влагалищного содержимого. Все пациентки перед оперативным лечением были осмотрены терапевтом, анестезиологом, по показаниям осуществлялись консультации необходимыми специалистами.

Гормональное исследование (определение уровня АМГ) проводилось в научно-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий - к.м.н. Т.Ю. Иванец). Использовался радио иммунологический метод определения концентрации гормонов в крови (тест-системы «Hoffmann La Roche, Ltd.» Швейцария). Гормональное исследование осуществлялось в период ранней фолликулярной фазы (2-3 день менструального цикла).

2.2.2 Специальные и инструментальные методы исследования

В работе были использованы следующие специальные инструментальные методы обследования: ультразвуковое исследование, гистероскопия, лапароскопия, патоморфологическое исследование удаленных препаратов, морфологическое исследование удаленных капсул кист и иссеченных очагов эндометриоза, соскобы эндометрия.

УЗИ органов малого таза выполняли в отделении функциональной диагностики ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В. И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – профессор А.И. Гус) с помощью приборов Aloka ProSound Alpha 10 (Япония), Toshiba Xario (Япония), с использованием трансабдоминального и трансвагинального датчиков 3,5 и 5,0 МГц. При эхографии в процессе исследования в режиме реального времени определяли: положение, размеры (длина, передне-задний, ширина) анатомическую форму и структуру матки, толщину эндометрия, размеры (длина, толщина, ширина), объем и структуру яичников.

Лапароскопию выполняли в отделении оперативной гинекологии ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В. И. Кулакова» Минздрава России (руководитель – академик РАН, д.м.н., профессор Л.В. Адамян) в условиях эндотрахеального наркоза по стандартной закрытой методике в положении Тренделенбурга. После опорожнения мочевого пузыря, при горизонтальном положении больной на спине через разрез в области пупка в брюшную полость вводили иглу Вереша и с помощью инсуфлятора Endoflator или Thermoflator (KarlStorzGmbH&Co., Германия) осуществляли наложение пневмоперитонеума с давлением в 15 мм рт. ст. Для наложения пневмоперитонеума использовали газ CO_2. После извлечения стилета в гильзу троакара вводили лапароскоп HopkinsII (KarlStorzGmbH&Co., Германия). Для дополнительных проколов брюшной стенки использовали 5

мм троакары с винтовой нарезкой (AppleMedicalCorp., США или KarlStorzGmbH&Co., Германия). При проведении вмешательств использовали: электрохирургические генераторы Autocon 200 и Autocon 350 и стандартные моно- и биполярные инструменты (KarlStorzGmbH&Co., Германия), мощностью до 60 Вт, работающие в непрерывном режиме и режиме ультрапульсации. Во время лапароскопии проводили тщательный осмотр брюшной полости и органов малого таза. Осматривалась поверхность кишечника, печени, париетальной брюшины, диафрагма. Осмотр малого таза проводился в следующем порядке: внешне осматривалась матка, при этом оценивали ее подвижность, размеры, окраску, консистенцию (с перемещением матки с помощью манипулятора или внутриматочной канюли, введенной в полость матки со стороны влагалища перед лапароскопией). Затем осматривали брюшину, покрывающую переднематочное и позадиматочное пространства; обращали внимание на состояние брюшины и очагов эндометриоза (локализация, количество, размеры и цвет эндометриоидных гетеротопий), характер перитонеальной жидкости. Затем с помощью манипуляторов со всех сторон осматривали маточные трубы и яичники. Оценивали их величину, структуру, наличие спаек, их характер, степень вовлечения в спаечный процесс матки, придатков, соседних органов (мочевого пузыря, петель кишечника, сальника). При исследовании яичников особое внимание уделялось количеству, размерам эндометриоидных кист яичников, их содержимому, степень выраженности фолликулярного аппарата на обоих яичниках. Проходимость маточных труб проверяли путем введения раствора метиленового синего через маточных зонд Любке. Выполнялась коагуляция очагов эндометриоза, адгезиолизис, цистэктомия. В ряде случаев эндометриоидных гетеротопий иссекались для дальнейшего гистологического исследования. У всех больных во время лапароскопии

производился забор эндометрия для последующего гистологического исследования.

С целью уточнения характера внутриматочной патологии производили диагностическую жидкостную **гистероскопию** жестким гистероскопом фирмы «Karl Storz» (Германия) с наружным диаметром 5 мм, при использовании которого в большинстве случаев не требовалось предварительное расширение цервикального канала. В качестве среды для расширения полости матки использовали стерильный физиологический раствор (0,9% NaCl), вводимый с помощью специальной аппаратуры фирмы «Karl Storz» (Германия). Диагностическая гистероскопия у всех пациенток сочеталась с диагностическим выскабливанием эндометрия или раздельным диагностическим выскабливанием эндоцервикса и эндометрия с последующим патоморфологическим исследованием препаратов.

Всем больным с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) по показаниям были произведены операции лапароскопическим доступом: резекция яичников в пределах здоровых тканей, адгезиолизис, сальпингоовариолизис, коагуляция и/или иссечение очагов наружного генитального эндометриоза, гистероскопия, диагностическое выскабливания эндометрия. На 4-7 сутки после операции все пациентки в удовлетворительном состоянии были выписаны домой под наблюдение врача женской консультации и НПО Центра.

2.2.3 Комплексное морфологическое исследование

Комплексное морфологическое исследование включало в себя следующие методы: гистологический и иммуногистохимический. Морфологическое исследование макропрепаратов, удаленных в ходе операции, проводили в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ

АГиП им. В. И. Кулакова» Минздрава России (зав. отделением - д.м.н., профессор Щеголев А.И.). Изучался операционный материал (капсулы кист, иссеченные очаги эндометриоза, соскоб эндометрия) и парафиновые срезы, включающие соскоб эндометрия, резецированную ткань яичника с капсулой кисты, а также ткань слизистой эндометрия и цервикального канала, полученную при выскабливании полости матки у 100 больных. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином (обзорная окраска). С помощью этого метода проводили гистологическое изучение материала для выявления характера, локализации и распространенности патологических процессов в удаленных при оперативных вмешательствах органах и тканях.

Вырезанные из операционного материала кусочки ткани фиксировали в 10% нейтральном формалине и, по общепринятой методике, после обезвоживания (проводки ткани), заливали в парафиновые блоки. Срезы ткани толщиной 4-5 мкм для дальнейшего морфологического исследования изготавливали на микротоме Leika (Germany).

Иммуногистохимические реакции проводили по общепринятой методике с демаскировкой антигенов в СВЧ-печи на серийных парафиновых срезах из очагов эндометриоза, эндометриоидных кист яичников, эндометрия. Из парафиновых блоков по обычной методике готовили гистологические срезы толщиной 4 мкм, которые фиксировали на стекла, предварительно покрытые адгезивом (APES-ацетон). Блокирование эндогенной пероксидазы проводилось 3% пероксидом водорода в депарафиновых срезах. Далее проводили демаскировку антигена в СВЧ печи в течение 20 минут при 600В в растворенном цитратном буфере с pH=6,0.

Иммуногистохимические реакции проводились на депарафинированных срезах толщиной 4-5 мкм, расположенных на стеклах, покрытых полилизированным слоем. После фиксации в 10% растворе

нейтрального формалина в течение 24 часов и стандартного протокола проводки материал заливали в парафин. Далее проводили окрашивание гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического исследования готовили срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высоко адгезивные стекла и сушили при температуре 37°С в течение 18 часов. После снятия парафина со срезов их регидратировали в батарее спиртов 95, 80, 70%, инкубируя в каждом растворе по 2 минуты. Восстановление антигенной активности проводили в PTLink («Dako») при температуре 97°С в течение 20 мин. в 10 мМ цитратном буфере pH 6,0. Остывшие стекла помещали во влажные камеры (для предотвращения высыхания срезов) и инкубировали 15 минут в 3% растворе перекиси водорода для блокирования эндогенной пероксидазы. Реакцию с первичными антителами проводили в течение 30 минут при комнатной температуре. В исследовании использовались PgR (clonePgR636), mousemonoclonalantibody (RTU, Dako), ER (clone 1D5), mousemonoclonalantibody (RTU, Dako), Ki-67 (RTU, Dako), MGMT (AGT), клон MAB 16200 (Millipore). Для визуализации мест связывания антител с антигенами использовали реакцию окисления субстрата 3,3-диаминобензидина (ДАБ) пероксидазой хрена в присутствии перекиси водорода с образованием водонерастворимого конечного продукта коричневого цвета системы «EnVision» (Dako). Для правильной постановки ИГХ реакций ставили положительные и отрицательные контроли. В качестве отрицательных контролей брали образцы исследуемых срезов, которые подвергались стандартной процедуре иммуногистохимической реакции, но без добавления первичных антител. Положительные контроли для каждого антитела выбирали в соответствии со спецификациями от фирмы производителя. После проведения ИГХ реакций срезы контрастировали гематоксилином и заключали в синтетическую среду «Shandon mount TM» (USA). Анализ результатов для ER, PR и MGMT проводили с учетом

количества окрашенных клеток и интенсивности окраски в поверхностном эпителии, железах и строме эндометрия, используя метод гистологического счета Histo-score по формуле: HS=1a + 1b + 3c (где a – процент слабо окрашенных клеток, b – процент умеренно окрашенных клеток, c – процент слабо окрашенных клеток). Результаты иммуногистохимической реакции Ki-67 оценивали в процентах: учитывалось количество окрашенных ядер на 100 клеток. Изучались следующие иммуногистохимические параметры: экспрессия эстрогеновых рецепторов (ER), прогестероновых рецепторов (PR), маркера пролиферации Ki-67 и маркера репарации ДНК MGMT в эпителии и строме эутопического и эктопического эндометрия. Результаты реакций оценивались по % окрашенных клеток одного типа.

2.2.4. Статистическая обработка полученных данных

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью таблиц «Microsoft Excel» и статистических программ «Statistica V10» (США) и SPSS Statistics 22 (США).

Для качественных данных определялись риски. Для сравнения категориальных данных в двух и более группах использовался тест χ^2. Для сравнения бинарных данных мерой ассоциации явилось отношение шансов (ОШ) с доверительным интервалом 95% (95% ДИ). Метод логистической регрессии с расчетом площади под кривой (от *англ.* – Area Under the Curve, AUC) использовался при расчете скорректированного ОШ ($ОШ_{кор}$) для контроля множественных конфаундеров.

Для анализа количественных данных в группах сравнения определялся вид распределения данных (тест Колмогорова-Смирнова, графический анализ данных). При нормальном распределении данных определялись средние значения со стандартным отклонением, для оценки различий в

группах применялись методы параметрической статистики (t-тест). При ненормальном распределении данных определялись медианы с интерквартильным размахом, для оценки различий в группах применялись методы непараметрической статистики (тест Манна-Уитни).

Зависимые данные оценивались с помощью коэффициента корреляции. Корреляционный анализ проводился с использованием непараметрического корреляционного критерия Спирмена.

Различия между статистическими величинами считались статистически значимыми при уровне достоверности $p < 0,05$.

Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиническая характеристика групп

Для решения поставленных задач в исследование были включены 114 пациенток, которые были стратифицированы на две группы: группа 1 - пациентки с I и II стадией эндометриоидных кист яичников (n=70), группа 2 - пациентки с III и IV стадией эндометриоидных кист яичников (n=44).

Средний возраст пациенток составил (30,1±5,1) лет и (30,7±5,4) лет в группах 1 и 2 соответственно (p>0,05). Распространенность перенесенных экстрагенитальных заболеваний у пациенток с эндометриоидными кистами яичников представлена в таблице 1. По частоте встречаемости каждого из экстрагенитальных заболеваний статистически значимых различий между сравниваемыми группами отмечено не было за исключением миопии, которая наблюдалась в 4,4 раза чаще у пациенток группы 2.

Таблица 1

Экстрагенитальные заболевания у пациенток
с эндометриоидными кистами яичников

Показатели	1 группа (n = 70)		2 группа (n = 44)		p-χ^2-тест
	абс	%	абс	%	
ПМК	5	7,1	2	4,5	>0,05
Гастрит	9	12,8	4	9,1	>0,05
ОРВИ	53	75,7	38	86,3	>0,05
Ветряная оспа	22	31,4	17	38,6	>0,05
Краснуха	3	4,3	3	6,8	>0,05
Бронхит	1	1,4	1	2,7	>0,05
Фарингит	1	1,4	1	2,7	>0,05
Холецистит	1	1,4	-	-	>0,05
Гайморит	1	1,4	-	-	>0,05
Пиелонефрит	1	1,4	1	2,7	>0,05

ПМК – пролапс митрального клапана; ОРВИ – острая респираторно-вирусная инфекция

Данные о перенесенных оперативных вмешательствах представлены в таблице 2. Частота перенесенных экстрагенитальных оперативных вмешательств была сопоставима в группах наблюдения.

Таблица 2

Перенесенные экстрагенитальные оперативные вмешательства у пациенток с эндометриоидными кистами яичников

Показатели	1 группа (n = 70)		2 группа (n = 44)		p-χ^2-тест
	абс	%	абс	%	
Ринопластика	-	-	2	4,54	>0,05
Аппендэктомия	8	11,43	1	2,72	>0,05
Паховая грыжа	1	1,43	-	-	>0,05

Данные о менструальной и сексуальной функциях представлены в таблице 3. Не было выявлено разницы в возрасте менархе, длительности менструации, длине менструального цикла, а также возрасте начала половой жизни между группами пациенток.

Таблица 3

Особенности менструальной и сексуальной функции у пациенток с эндометриоидными кистами яичников

Показатели	1 группа (n = 70)	2 группа (n = 44)	p-t-тест
Возраст менархе, лет	13,6±1,5	12,9±1,0	>0,05
Длительность менструации, дней	28,1±2,1	28,3±1,9	>0,05
Длина цикла, дней	5,3±1,6	5,4±1,3	>0,05
Возраст начала половой жизни, лет	19,4±3,4	19,0±3,4	>0,05

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

Оценка акушерского анамнеза (число беременностей, родов, самопроизвольных и искусственных прерываний беременности) не выявила разницы между группами пациенток (Таблица 4). При этом большее число родов отмечалось в группе 2, а большее число абортов - в группе 1.

Таблица 4

Реализация репродуктивной функции у пациенток с эндометриоидными кистами яичников

Показатели	1 группа (n = 70)	2 группа (n = 44)	p- тест Манна-Уитни
Число беременностей	0 (0-1)	0 (0-1)	>0,05
Число родов	0 (0-0)	0 (0-0,5)	>0,05
Число абортов	0 (0-1)	0 (0-0)	>0,05

Данные представлены как медианы с интерквартильным размахом

Гинекологическая заболеваемость не различалась группах сравнения (Таблица 5). Учитывая строгие критерии включения в исследование, у наблюдаемых пациенток в анамнезе отмечались лишь воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) и заболевания, передаваемые половым путем (ЗППП).

Таблица 5

Структура гинекологической заболеваемости пациенток с эндометриоидными кистами яичников

Показатели	1 группа (n = 70)	2 группа (n = 44)	p- p- χ^2-тест
ЗППП	10 (14,3%)	6 (13,6%)	>0,05
ВЗОМТ	7 (10,0%)	4 (9,1%)	>0,05

Данные о гинекологических оперативных вмешательствах представлены в таблице 6. При анализе данных о ранее перенесенных гинекологических операциях обращает на себя тот факт, что при эндометриозе наиболее часто подвергался поражению правый яичник в 14,9% и 9,1% в группах 1 и 2, соответственно. Однако во 2-й группе было одно наблюдение с четырьмя оперативными вмешательствами по поводу эндометриоза яичников, и одно - с 2-мя операциями на яичниках.

Таблица 6

Оперативные вмешательства в анамнезе у пациенток с эндометриоидными кистами яичников

Показатели		1 группа (n = 70)		2 группа (n = 44)		p-χ^2-тест
		абс	%	абс	%	
Ls по поводу эндометриоза	Правый яичник	10	14,29	4	9,09	>0,05
	Левый яичник	-	-	-	-	-
	Оба яичника	1	1,43	4	9,09	>0,05
Тубэктомия		3	4,29	-	-	>0,05
Сальпингоовариолизис		6	8,57	-	-	>0,05
Коагуляция очагов НГЭ		9	12,86	7	15,9	>0,05

Ls- лапароскопия, НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

Основной жалобой пациенток с эндометриоидными кистами яичников был болевой синдром внизу живота регулярного характера (71,4% и 75,0% в группах 1 и 2, соответственно). Болями также сопровождалась менструация у подавляющего большинства женщин (37,1% в 1-й группе, 63,6% во 2-й группе). При этом у пациенток с более выраженной стадией эндометриоза значимо чаще отмечались такие жалобы как полименорея и альгоменорея (Таблица 7, Рисунок 2).

Таблица 7

Жалобы у пациенток с эндометриоидными кистами яичников

Жалобы	1 группа (n = 70)		2 группа (n = 44)		p-χ^2-тест
	абс	%	абс	%	
Боли внизу живота	50	71,4	33	75,0	>0,05
Полименорея	11	15,7	14	31,8	**0,0430**
Альгоменорея	26	37,1	28	63,6	**0,0058**
Диспареуния	11	15,7	3	6,8	>0,05
Бесплодие	10	14,3	3	6,8	>0,05

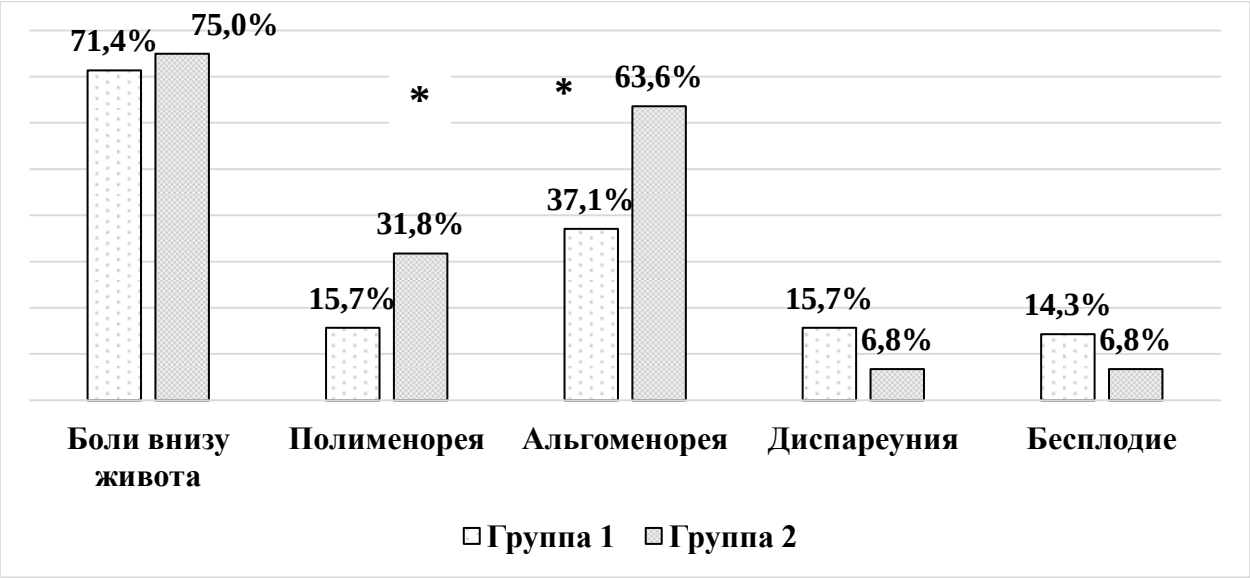

Рисунок 2. Жалобы пациенток с эндометриоидными кистами яичников, *p<0,05.

Как следует из таблицы 8, в большинстве случаев в группе 1 эндометриоидные кисты были в одном из яичников, а в группе 2 - одинаково поражался как один, так и оба яичника.

Таблица 8

Локализация обнаруженных при лапароскопии эндометриоидных кист

Поражение эндометриозом яичников	1 группа (n = 70)		2 группа (n = 44)		p-χ^2-тест
	абс	%	абс	%	
1 яичник	41	58,6	22	50,0	>0,05
2 яичника	29	41,4	22	50,0	

Наиболее часто поверхностные поражения локализовались на брюшине (91,4% и 90,9% в группах 1 и 2, соответственно) и на крестцово-маточных связках (в группе 1 - в 82,6% случаев, в группе 2 - в 81,8% случаев). У пациенток с более выраженной стадией эндометриоза значимо чаще отмечалось поражение кишечника (27,3% в группе 2 и 5,7% в группе 1) (p=0,0020) (Таблица 9, Рисунок 3).

Таблица 9

Локализация эндометриоидных гетеротопий у пациенток с эндометриоидными кистами яичников по данным лапароскопии

Поражение эндометриозом тазовых органов	1 группа (n = 70)		2 группа (n = 44)		p-χ^2-тест
	абс	%	абс	%	
Кишечник	4	5,7	12	27,3	**0,0020**
Брюшина	64	91,4	40	90,9	>0,05
Крестцово-маточные связки	58	82,8	36	81,8	>0,05
Ретроцервикальная область	7	10,0	10	22,7	>0,05

Рисунок 3. Локализация эндометриоидных гетеротопий у пациенток с эндометриоидными кистами яичников по данным лапароскопии, *p<0,05.

Из таблицы 10 видно, что с увеличением стадии эндометриоза яичников увеличивалась частота интраоперационного иссечения очагов на яичниках, а не их коагуляция (38 случаев (54,3%) в группе 1 и 34 случая (77,3%) в группе 2, соответственно).

Таблица 10

Хирургические методы удаления эндометриоидных гетеротопий на яичниках у пациенток с эндометриоидными кистами яичников при лапароскопии

Оперативная тактика	1 группа (n = 70)		2 группа (n = 44)		p-χ^2-тест
	абс	%	абс	%	
Коагуляция очагов	63	90,0	42	95,5	>0,05
Иссечение очагов	38	54,3	34	77,3	**0,0132**

Мы провели оценку овариального резерва у пациенток групп 1 и 2 до операции. Уровень АМГ не отличался у пациенток обеих групп несмотря на больший суммарный объем яичников за счет большего диаметра эндометриоидных кист у пациенток группы 2 (Таблица 11).

Таблица 11

Параметры овариального резерва до операции у пациенток с эндометриоидными кистами яичников

Параметры	1 группа (n = 70)	2 группа (n = 44)	p-t-тест
Уровень АМГ, нг/мл	3,52±1,40	3,12±1,74	>0,05
Суммарный объем яичников, $см^3$	31,9±17,5	57,3±30,1	**<0,0001**
Диаметр ЭКЯ, см	5,3±4,0	10,7±4,8	**<0,0001**

ЭКЯ – эндометриоидные кисты яичников

Таким образом, суммируя анализ клинико-анамнестических данных, можно заключить, что пациентки с более выраженными стадиями эндометриоза (группа 2) отличались от пациенток с I-II стадиями эндометриоза (группа 1) тем, что чаще имели жалобы в виде поли- и альгоменореи, у них был больший объем яичников и диаметр кист до операции, во время лапароскопии у них чаще обнаруживалось поражение кишечника, чаще применялась операционная техника в виде иссечения, а не коагуляции очагов эндометриоза. Остальные клинико-анамнестические данные были сопоставимы в двух группах пациенток.

3.2. Изменение овариального резерва через 1 год после операции

Согласно критериям ESHRE, одним из значимых критериев НОР является снижение уровня АМГ менее 1,2 нг/мл [105]. Мы проанализировали уровень АМГ до и после операции и выявили факторы, влияющие на снижение овариального резерва в зависимости от стадии эндометриоидных кист яичников.

В целом, без учета стадии эндометриоза, оперативное лечение эндометриоза яичников негативно влияло на овариальный резерв. Уровень АМГ и суммарный объем яичников значимо снижались после операции (Таблица 12).

Таблица 12

Изменение фолликулярного резерва у пациенток с эндометриоидными кистами яичников после оперативного лечения

Параметры	До операции	После операции	тест ранговой корреляции Спирмена
Уровень АМГ (нг/мл)	3,36±1,54	1,54±1,15	r=0,7445, **p<0,0001**
Суммарный объем яичников ($см^3$)	41,7±26,2	14,5±4,9	r=0,3639, **p=0,0310**

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

При оценке фолликулярного резерва была выявлена значимая корреляционная связь между объемом яичников и уровнем АМГ до и после операции как при I-II, так и при III-IV стадии эндометриоза (Таблицы 13,14; Рисунок 4).

Таблица 13

Изменение объема яичников после операции в зависимости от стадии эндометриоза

Стадия эндометриоза	Объем яичников до операции ($см^3$)	Объем яичников после операции ($см^3$)	тест ранговой корреляции Спирмена
I-II стадия (n=70)	31,9±17,5	14,3±4,8	r=0,2209, **p= 0,0070**
III-IV стадия (n=44)	57,3±30,1	14,8±5,0	r=0,2213, **p= 0,0491**

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

Таблица 14

Изменение уровня АМГ после операции в зависимости от стадии эндометриоза

Стадия эндометриоза	Уровень АМГ до операции (нг/мл)	Уровень АМГ после операции (нг/мл)	тест ранговой корреляции Спирмена
I-II стадия (n=70)	3,52±1,40	1,80±1,04	r=0,7012, **p< 0,0001**
III-IV стадия (n=44)	3,12±1,74	1,12±1,19	r=0,7976, **p< 0,0001**

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

Следует отметить, что в целом объем яичников до операции не отражал состояние овариального резерва. При проведении корреляционного анализа не было выявлено значимой связи между объемом яичников и уровнем АМГ до операции, однако была обнаружена значимая корреляция слабой силы между уровнем АМГ и суммарным объемом яичников после операции (r = 0,2745). Связи между изменением суммарного объема яичников и изменением уровня АМГ выявлено не было (Таблица 15).

При проведении подобного анализа в зависимости от стадии эндометриоза была выявлена связь между уровнем АМГ и суммарным объемом яичников после операции в обоих группах пациенток, (Таблица 16). Таким образом, объем яичников после операции влияет на состояние овариального резерва вне зависимости от стадии эндометриоза,

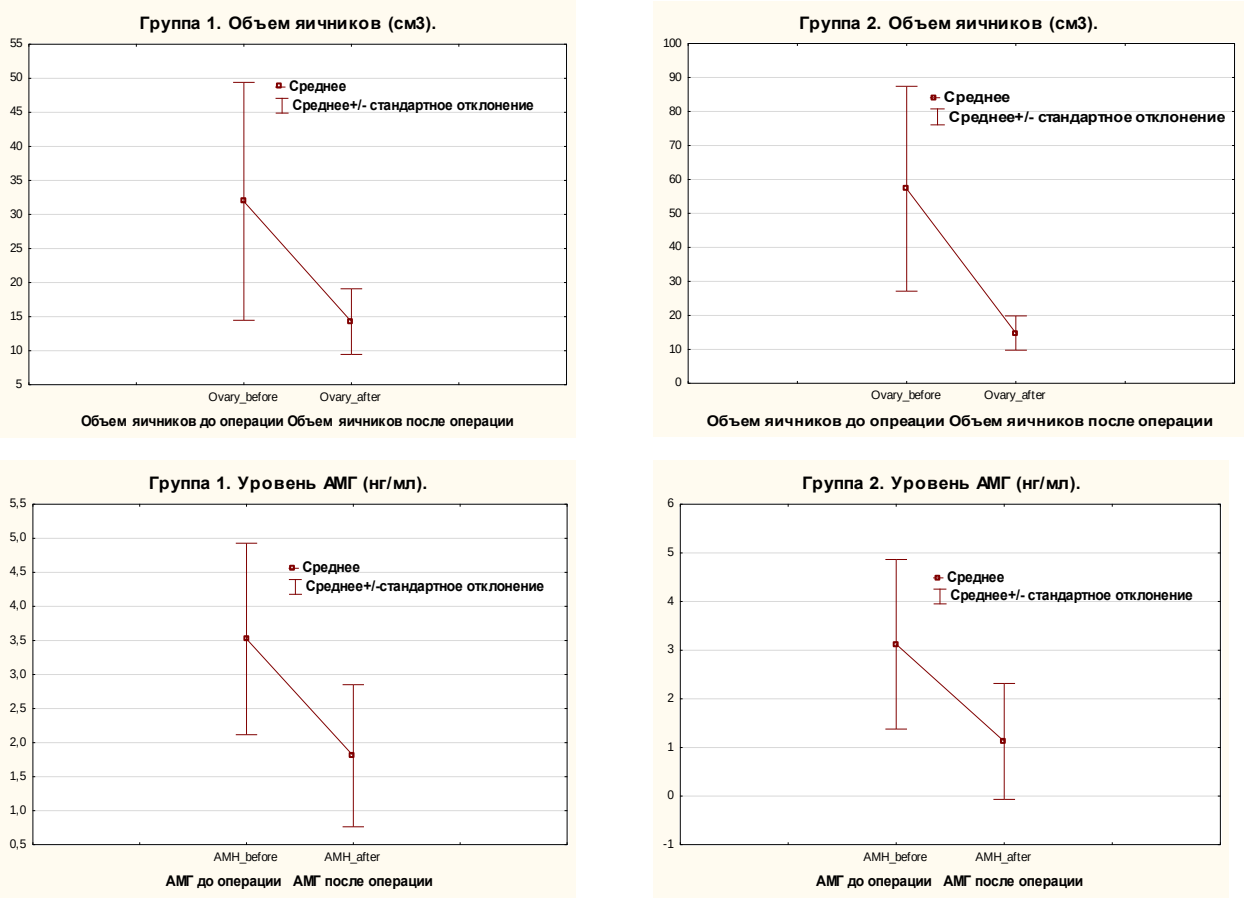

Рисунок 4. Изменение овариального резерва после операции в зависимости от стадии эндометриоза.

Таблица 15

Связь между уровнем АМГ и суммарным объемом яичников

Параметр	Уровень АМГ (нг/мл)	Суммарный объем яичников ($см^3$)	тест ранговой корреляции Спирмена
До операции	4,29±3,40	36,38±29,73	r=0,0757, p>0,05
После операции	2,17±1,91	14,59±8,06	r=0,2745, **p=0,0030**
Изменение	23,84±30,19	1,84±2,0	r=0,1368, p>0,05

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

Таблица 16

Связь между уровнем АМГ и суммарным объемом яичников в зависимости от стадии эндометриоза

Стадия эндометриоза	Уровень АМГ (нг/мл)	Суммарный объем яичников ($см^3$)	тест ранговой корреляции Спирмена
I-II стадия (n=70) до операции	3,52±1,40	31,9±17,5	r=0,2272, p> 0,05
I-II стадия (n=70) после операции	1,80±1,04	14,3±4,8	r=0,2620, **p= 0,0270**
III-IV стадия (n=44) до операции	3,12±1,74	57,3±30,1	r=0,1044, p> 0,05
III-IV стадия (n=44) после операции	1,12±1,19	14,8±5,0	r=0,3566, **p= 0,0180**
I-II стадия (n=70) изменение	1,72±1,00	17,6±16,6	r=0,1939, p> 0,05
III-IV стадия (n=44) изменение	2,00±1,07	42,5±30,5	r=0,0810, p> 0,05

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

Согласно критериям включения в исследование, до операции нормальный овариальный резерв отмечался у всех пациенток. До операции уровень АМГ был сопоставим в обеих группах и составил (3,52±1,40) нг/мл в группе 1 и (3,12±1,74) нг/мл в группе 2 (p>0,05) (Таблица 11).

После операции НОР выявлялся в 7 раз чаще у пациенток с более тяжелыми стадиями эндометриоза яичников: у 15 пациенток группы 1 (21,4%) и 29 пациенток группы 2 (65,9%) (p<0,0001, **ОШ=7,1**, 95% ДИ=3,0; 16,6) (Рисунок 5). При этом уровень АМГ составил (1,80±1,04) нг/мл в группе 1 и (1,12±1,19) нг/мл в группе 2 (p=0,0016).

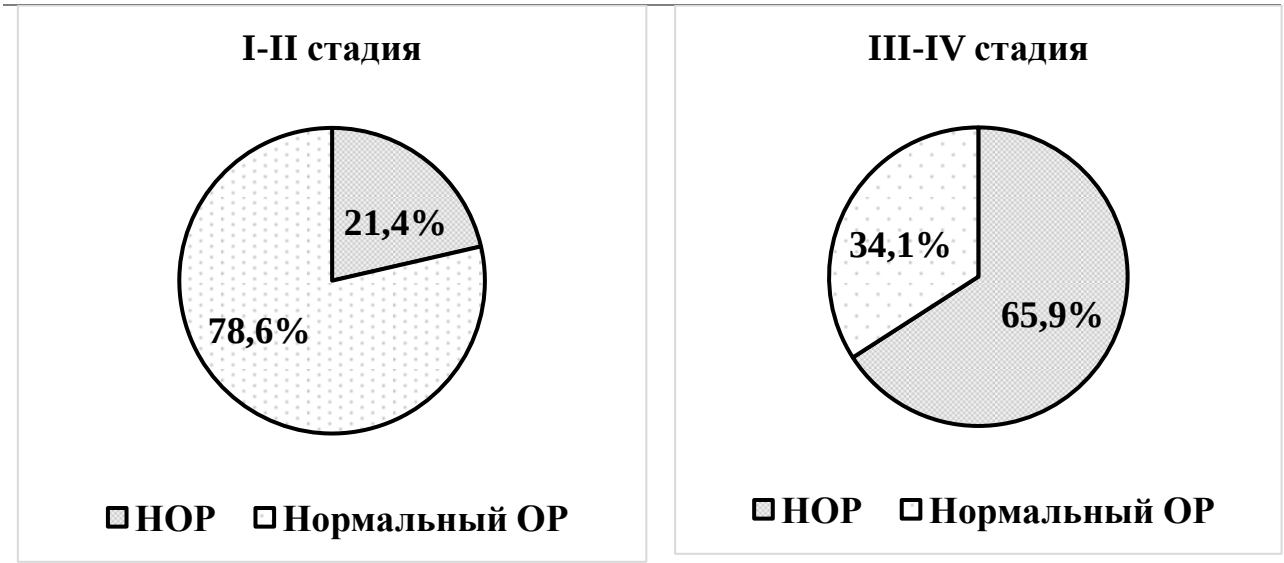

Рисунок 5. Частота развития низкого овариального резерва (НОР) у пациенток после резекции эндометриоидных кист яичников.

Мы провели анализ факторов, влияющих на снижение овариального резерва после операции. Не было выявлено влияния менструальной, репродуктивной функций, акушерского анамнеза, гинекологической и соматической заболеваемости на риск развития НОР после операции. Частота поражения одного или обоих яичников не была связана со снижением овариального резерва после операции. Суммарный объем яичников после операции не был связан с НОР, до операции имел погранично значимую связь с НОР. Хотя согласно представленным выше данным (Таблица 15,16), объем яичников был связан с уровнем АМГ после операции, но при этом не во всех случаях уровень АМГ достигал порогового значения 1,1 нг/мл, что свидетельствовало бы о снижении овариального резерва.

Значимыми факторами, влияющими на развитие НОР, были: стадия эндометриоза ($p<0,0001$), уровень АМГ до операции ($p<0,0001$), суммарный диаметр кист до операции ($p=0,0057$) и резекция очагов эндометриоза на яичниках ($p=0,0376$). Также на НОР погранично значимо влияло изменение суммарного объема яичников ($p=0,0558$) (Таблица 17, Рисунок 6). При более выраженной стадии эндометриоза, более низком уровне АМГ до операции,

большем диаметре эндометриоидных кист, большем снижении объема яичников и более частой резекции очагов эндометриоза, НОР после операции развивался значимо чаще. После операции НОР был выявлен в 2,4 раза чаще у пациенток с резекцией очагов эндометриоза: у 15 пациенток группы 1 (21,4%) и 29 пациенток группы 2 (65,9%) (p<0,0001, **ОШ=2,4**, 95% ДИ=1,04; 5,6).

Таблица 17

Влияние различных клинических факторов на развитие НОР у пациенток после резекции эндометриоидных кист яичников

Параметры		НОР (n = 44)	Нормальный ОР (n = 70)	p-
Возраст пациенток, лет**		31,0±4,9	30,0±5,4	>0,05
Стадия эндометриоза*	I-II	15 (34,1%)	55 (78,6%)	**<0,0001**
	III-IV	29 (65,9%)	15 (21,4%)	
Поражение яичников*	1	23 (52,3%)	40 (57,2%)	>0,05
	2	21 (47,7%)	30 (42,8%)	
Суммарный объем яичников до операции, $см^3$ **		47,4±30,4	38,1±22,6	0,0648
Суммарный объем яичников после операции, $см^3$ **		14,3±4,6	14,5±5,0	>0,05
Изменение суммарного объема яичников, $см^3$		33,1±29,9	23,6±22,3	**0,0558**
Уровень АМГ до операции, нг/мл **		2,30±1,25	4,03±1,33	**<0,0001**
Уровень АМГ после операции, нг/мл **		0,49±0,39	2,20±0,95	**<0,0001**
Суммарный диаметр ЭКЯ, см **		9,0±4,6	6,4±5,1	**0,0057**
Резекция очагов эндометриоза*		33 (75,0%)	39 (55,7%)	**0,0376**
Коагуляция очагов эндометриоза*		42 (95,4%)	63 (90,0%)	>0,05

*χ^2-тест, **t-тест, данные представлены как среднее±стандартное отклонение

Мы провели многофакторный анализ шансов развития НОР и рассчитали пороговые значения уровня АМГ, диаметра ЭКЯ до операции и изменения объема яичников после операции.

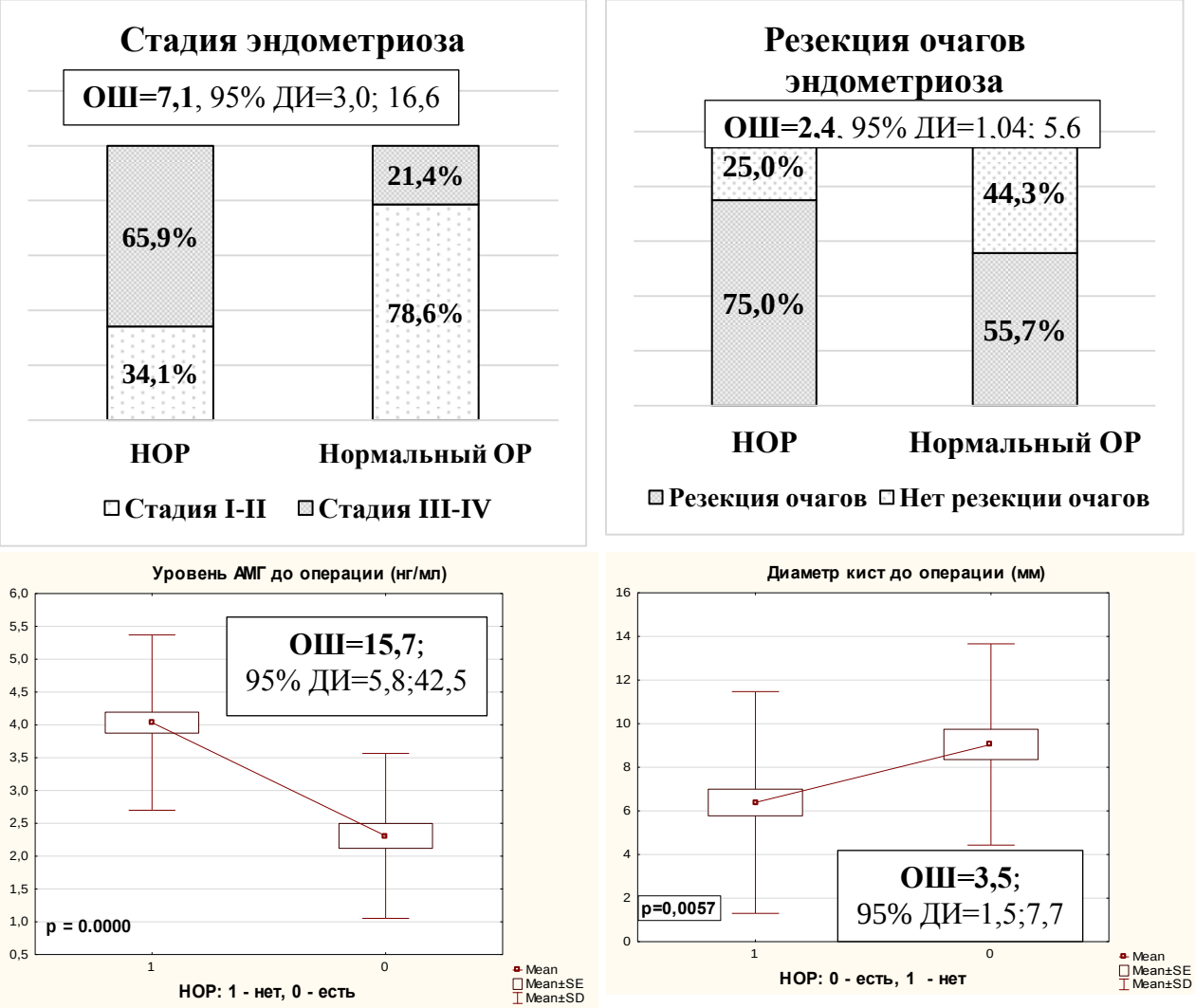

Рисунок 6. Факторы риска развития НОР после операции.

Пороговый уровень АМГ составил 2,50 нг/мл. При уровне АМГ до операции ниже 2,50 нг/мл, шансы развития НОР после операции возрастали в 15,7 раз (**ОШ=15,7**; 95% ДИ=5,8;42,5). Чувствительность модели = 63,6%, специфичность = 90,0%, AUC=76,8%.

Пороговый диаметр ЭКЯ составил 7 см. При диаметре ЭКЯ более или равном 7 см, шансы развития НОР после операции возрастали в 3,5 раз

(**ОШ=3,5**; 95% ДИ=1,5;7,7). Чувствительность модели = 65,9%, специфичность = 64,3%, AUC=65,1%.

Пороговое изменение объема яичников составило 35 см^3. При диаметре ЭКЯ более или равном 35 см^3, шансы развития НОР после операции возрастали в 3,5 раз (**ОШ=3,5**; 95% ДИ=1,6;7,7). Чувствительность модели = 38,6%, специфичность = 75,7%, AUC=65,1%.

При проведении многофакторного анализа с помощью метода логистической регрессии было выявлено, что при введении в модель выше указанных параметров в виде непрерывных величин, на развитие НОР оказывали влияние только уровень АМГ до операции и суммарный диаметр ЭКЯ (AUC=85,2%; ОШ$_{кор}$НОР в зависимости от уровня АМГ=2,9; 95% ДИ=1,9;4,3; ОШ$_{кор}$НОР в зависимости от диаметра ЭКЯ=1,1; 95% ДИ=1,03;1,2). При включении в модель выше указанных предикторов в виде непрерывных величин была получена следующая формула прогноза развития НОР (Формула 1).

$$P(НОР)= \left(\frac{Exp\,[1{,}84-1{,}06*АМГ+0{,}13*ЭКЯ]}{1+Exp\,[1{,}84-1{,}06*АМГ+0{,}13*ЭКЯ]}\right)*100\%$$

где Р (НОР) - вероятность развития низкого овариального резерва, Exp - экспонента, АМГ - уровень АМГ в нг/мл, ЭКЯ - диаметр ЭКЯ в см

Формула 1. Вероятность развития НОР у пациенток с ЭКЯ после операции.

Например, у пациентки с уровнем АМГ до операции 4,0 нг/мл и диаметром ЭКЯ = 4 см вероятность развития НОР после операции, согласно разработанной формуле, составила:

$$P(НОР)= \left(\frac{Exp\,[1{,}84-1{,}06*4+0{,}13*4]}{1+Exp\,[1{,}84-1{,}06*4+0{,}13*4]}\right)*100\% = 13\%$$

А у пациентки с уровнем АМГ до операции 2,0 нг/мл и диаметром ЭКЯ = 8 см вероятность развития НОР после операции, согласно разработанной формуле, составила:

$$P(НОР)= \left(\frac{Exp\,[1,84-1,06*2+0,13*8]}{1+Exp\,[1,84-1,06*2+0,13*8]}\right)*100\% = 68\%$$

На основании полученных ОШ НОР в зависимости от выявленных факторов риска мы разработали шкалу оценки риска развития НОР после операции. Для этого мы округлили и ранжировали рассчитанные ОШ в порядке их возрастания: резекция очагов эндометриоза =2,5, диаметр ЭКЯ ≥7 см =3,5, снижение объема яичников ≥35 см^3 = 3,5, III-IV стадия эндометриоза = 7, уровень АМГ до операции <2,5 нг/мл =15. Далее мы придали относительный вес каждому из ОШ, начиная с ОШ НОР в зависимости от проведения резекции очагов эндометриоза, приняв его за единицу: резекция очагов эндометриоза =1, диаметр ЭКЯ ≥7 см =2, снижение объема яичников ≥35 см^3 = 2, III-IV стадия эндометриоза = 3, уровень АМГ до операции <2,5 нг/мл =6 (Таблица 18).

Таблица 18

Шкала оценки риска развития НОР после операции

Фактор риска	Результат	Баллы
Стадия эндометриоза	I-II	1
	III-IV	**3**
АМГ до операции (нг/мл)	≥2,5	1
	<2,5	**6**
Суммарный диаметр кист (см)	<7	1
	≥7	**2**
Снижение объема яичников (см^3)	<35	1
	≥35	**2**
Резекция очагов эндометриоза на яичниках	Нет	0
	Да	**1**

4 балла - риск низкий; 5-9 баллов - риск средний; 10-14 баллов - риск высокий

Далее мы допустили, что к низкому риску развития НОР будут относиться пациентки с I-II стадией эндометриоза, с уровнем АМГ до операции ≥2,5 нг/мл, с суммарным диаметром ЭКЯ < 7см, со снижением объема яичников < 35 см^3 и с отсутствием резекции очагов эндометриоза, что соответствует 4 баллам.

К высокому риску развития НОР будут относиться пациентки с III-IV стадией эндометриоза, уровнем АМГ до операции <2,5 нг/мл и с наличием хотя бы еще одного из следующих критериев: с суммарным диаметром ЭКЯ ≥ 7см, со снижением объема яичников ≥ 35 см^3 или с проведением резекции очагов эндометриоза, что соответствует 10-14 баллам.

Остальные пациентки будут относиться к группе среднего риска, что соответствует 5-9 баллам.

3.3 Результаты иммуногистохимического исследования уровня эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, KI67 и MGMT в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с эндометриоидными кистами яичников

При морфологическом исследовании операционного материала в ткани яичников было выявлено наличие очагов железистого и железисто-кистозного эндометриоза.

При иммуногистохимическом анализе очагов эндометриоза и эутопического эндометрия было установлено, что положительная реакция с эстрогеном, прогестероном и маркером пролиферации Ki-67 наблюдалась в ядрах железистых и стромальных клеток, выраженность которой зависела от фазы менструального цикла, а также стадии эндометриоза.

На препаратах с реакцией на **рецепторы эстрогена** в ткани эутопического эндометрия более высокое количество иммунопозитивных

ядер клеток отмечалось в фазу пролиферации по сравнению с фазой секреции: в железистых клетках на 68,6% (p<0,05), в стромальных клетках на 87,4% (p<0,05) (Рисунок 7).

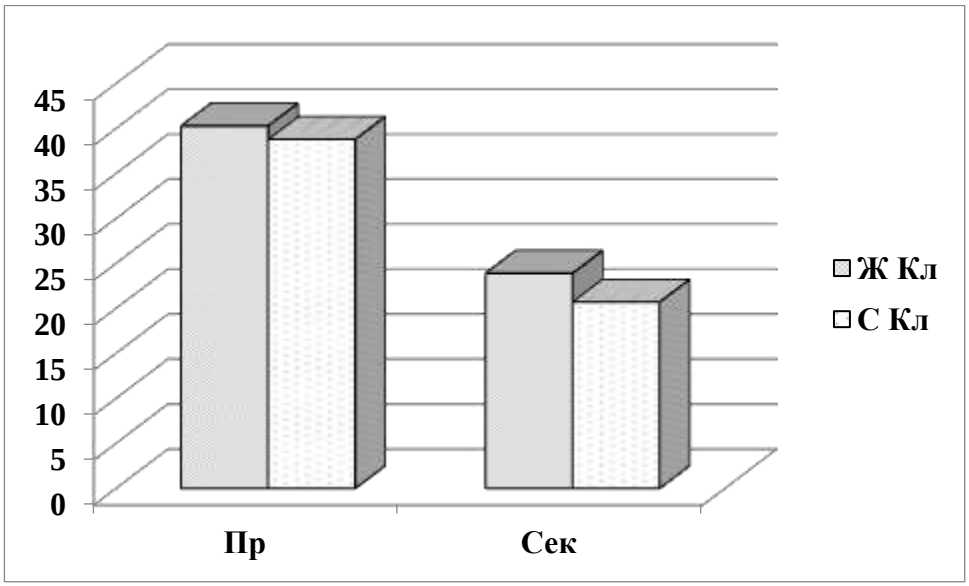

Рисунок 7. Количество железистых (Ж Кл) и стромальных (С КЛ) клеток с иммунопозитивными к рецепторам эстрогена ядрами в эутопическом эндометрии фазы пролиферации (Пр) и секреции (Сек). По оси ординат: количество (%) окрашенных ядер.

При этом в обе фазы менструального цикла количество окрашенных ядер было больше в железистом компоненте по сравнению со стромой (на 3,9% в фазу пролиферации и 15,5% в фазу секреции) (Рисунок 8).

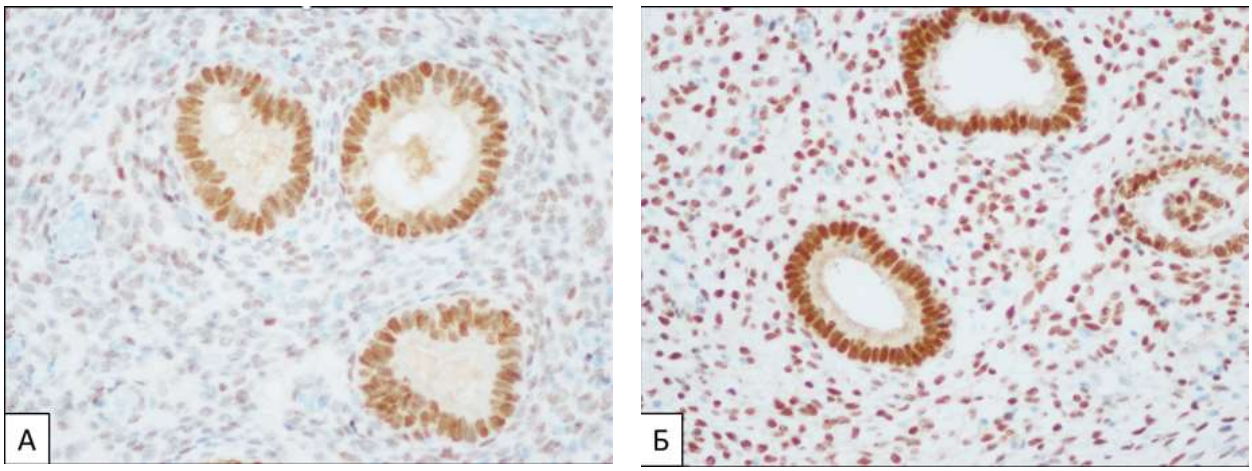

Рисунок 8. Экспрессия ER в клетках эутопического эндометрия в фазы секреции (А) и пролиферации (Б). Иммунопероксидазный метод, ув. 200.

При анализе препаратов с **эутопическим эндометрием** количество клеток с иммунопозитивными ядрами зависело от стадии эндометриоза. Максимальное количество окрашенных на рецепторы эстрогена ядер в железистых клетках и в стромальных клетках было выявлено при III-IV стадиях эндометриоза, превышающее аналогичные показатели при I и II стадиях эндометриоза ($p<0,05$). При этом количество иммунопозитивных ядер в железистых клетках немного превышало соответствующие значения в стромальных клетках (Таблица 19, Рисунок 9).

Таблица 19

Количество железистых (Ж Кл) и стромальных (С Кл) клеток с иммунопозитивными к рецепторам эстрогена ядрами в эутопическом и эктопическом эндометрии при различных стадиях заболевания

	Эндометрий			Эндометриоз		
	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл
I	23,9±1,1	20,7±0,9	1,15±0,04	26,8±1,2	22,6±1,0	1,19±0,04
II	24,2±1,1	19,3±0,9	1,25±0,05	23,0±1,0	52,8±2,2	0,44±0,02
III	32,2±1,3	41,4±1,8	0,78±0,03	19,9±0,9	49,6±2,1	0,4±0,02
IV	64,7±2,4	55,6±2,3	1,16±0,0	31,3±1,2	43,6±1,9	0,72±0,03

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

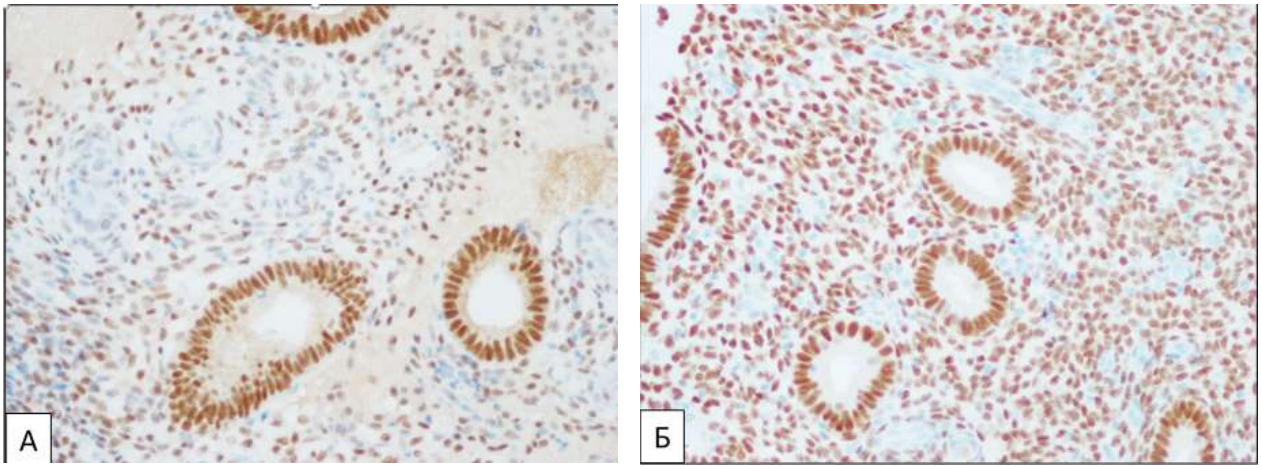

Рисунок 9. Экспрессия ER в клетках эутопического эндометрия при I (А) и IV (Б) стадии эндометриоза. Иммунопероксидазный метод, ув. 200 (А), ув. 100 (Б).

В эктопическом эндометрии количество клеток с положительной реакцией ядер на рецепторы эстрогена также зависело от стадии заболевания (Таблица 19, Рисунки 10-11). Наибольшее количество железистых клеток с окрашенными ядрами установлено при IV стадии эндометриоза. Примечательно, что при I стадии эндометриоза количество железистых клеток с окрашенными ядрами было больше соответствующих значений эутопического эндометрия, а при II-IV стадиях, наоборот, меньше показателей нормального эндометрия.

В стромальных клетках очагов эндометриоза минимальное количество окрашенных ядер отмечалось при I стадии заболевания (Таблица 19, Рисунки 10-11). При этом количество иммунопозитивных ядер в стромальных клетках очагов эндометриоза превышало соответствующие значения железистых клеток при I стадии и было меньше при II-IV стадиях заболевания (Таблица 19). В свою очередь, количество стромальных клеток с иммунопозитивными ядрами в участках эндометриоза было больше соответствующих значений эутопического эндометрия при I, II и III стадии заболевания и меньше аналогичных показателей при IV стадии.

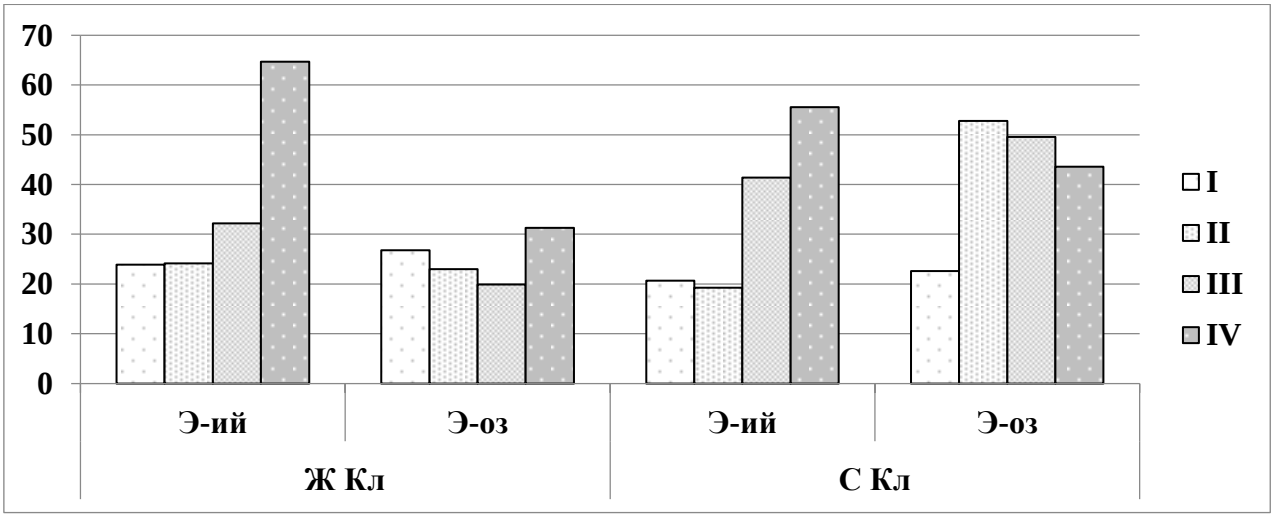

Рисунок 10. Количество железистых (Ж Кл) и стромальных (С Кл) клеток с иммунопозитивными к рецепторам эстрогена ядрами в эутопическом эндометрии (Э-ий) и участках эндометриоза (Э-оз) при различных стадиях эндометриоза. По оси ординат: кол-во (%) окрашенных ядер.

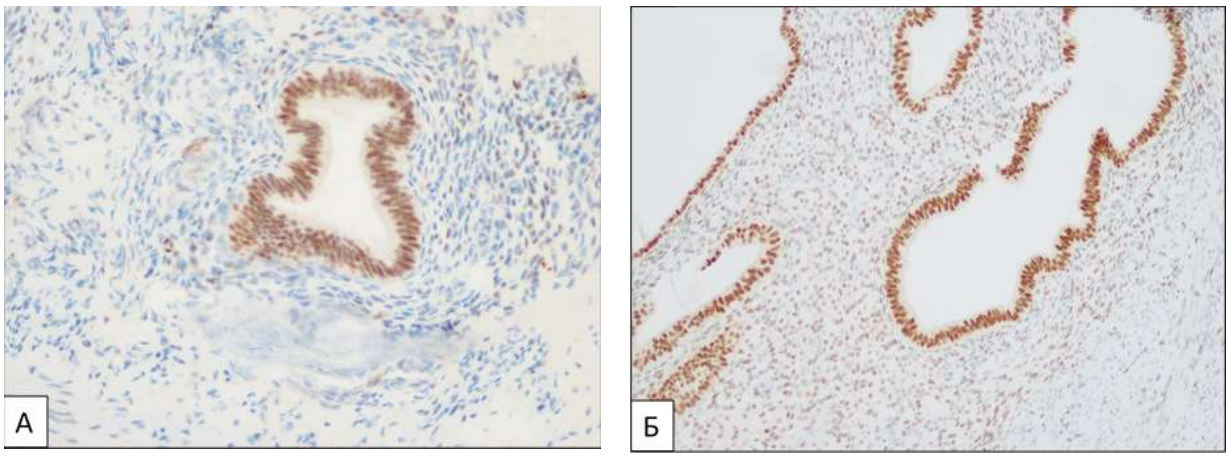

Рисунок 11. Экспрессия ER в клетках эктопического эндометрия при I (А) и II (Б) стадии эндометриоза. Иммунопероксидазный метод, ув. 200 (А), ув. 100 (Б).

При **сравнительном анализе препаратов эутопического и эктопического эндометрия** у больных с развитием и без развития НОР обращает на себя внимание, что эктопический эндометрий пациенток с НОР характеризовался увеличением числа иммунопозитивных стромальных клеток на 47,7% ($p<0,05$) при практически неизменном количестве железистых клеток с окрашенными ядрами (Таблица 20, Рисунок 12). А в эутопическом эндометрии у пациенток с НОР отмечалось более низкое количество клеток, окрашенных на рецепторы эстрогена: железистых клеток на 49,7% и стромальных клеток на 58,9% (Таблица 20, Рисунок 13).

Таблица 20

Количество железистых (Ж Кл) и стромальных (С КЛ) клеток эутопического и эктопического эндометрия, окрашенных на рецепторы эстрогена, у пациенток с развитием и без развития НОР

	Эндометрий			Эндометриоз		
	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл
Нормальный ОР	48,1±2,2	48,4±2,2	0,99±0,03	24,5±1,1	40,7±1,9	0,60±0,02
НОР	24,2±1,1	19,9±1,0	1,22±0,05	24,1±1,1	60,1±2,7	0,40±0,02

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

В соответствии с такими изменениями при нормальном овариальном резерве и НОР соотношение иммунопозитивных железистых и стромальных клеток в очагах эндометриоза было меньше единицы. В эутопическом эндометрии такое соотношение было больше единицы при НОР и имело одинаковые значения при нормальном овариальном резерве.

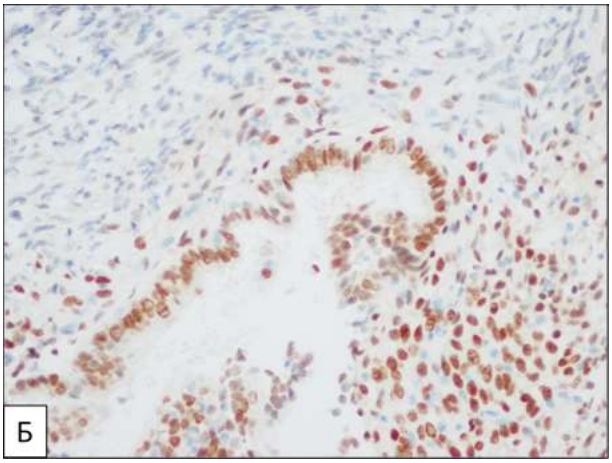

Рисунок 12. Экспрессия ER в клетках эктопического эндометрия при НОР (А) и нормальном овариальном резерве (Б). Иммунопероксидазный метод, ув. 100 (А), ув. 200 (Б).

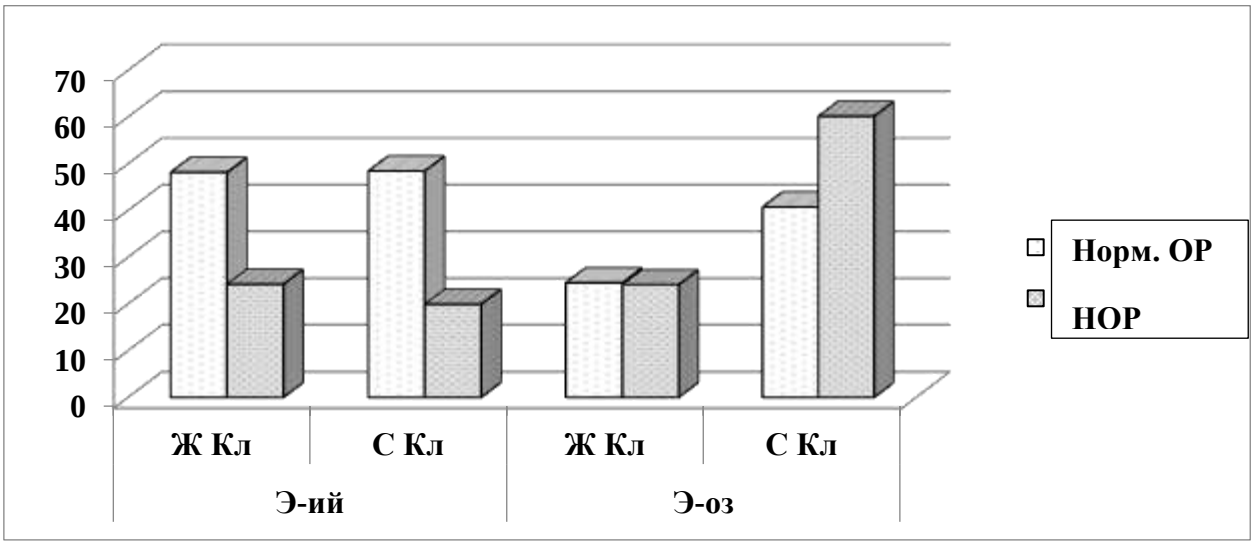

Рисунок 13. Количество железистых (Ж Кл) и стромальных (С Кл) клеток эутопического и эктопического эндометрия, окрашенных на рецепторы эстрогена, при нормальном овариальном резерве и НОР.

При анализе иммуногистохимических препаратов с реакцией на **рецепторы прогестерона** в ткани **эутопического эндометрия** количество железистых и стромальных клеток с окрашенными ядрами в фазу пролиферации было больше аналогичных значений в фазу секреции на 59,7% и 1,9% соответственно (Рисунок 14). При этом в обе фазы менструального цикла бóльшее количество иммунопозитивных клеток отмечалось в стромальном компоненте по сравнению с железами (в 1,8 раза в фазу пролиферации и в 2,9 раза в фазу секреции, $p<0,05$) (Рисунок 15).

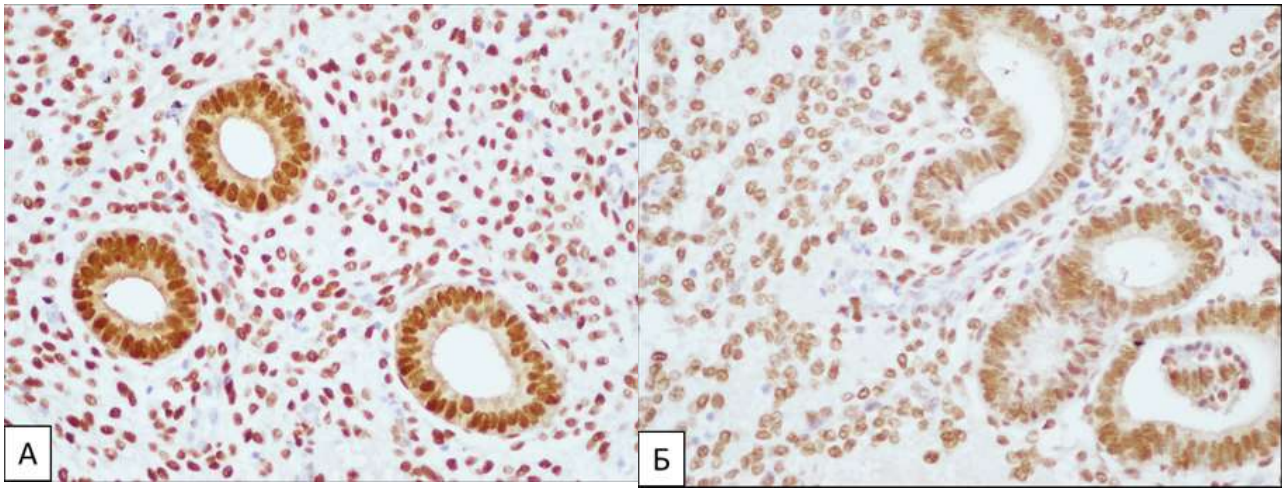

Рисунок 14. Экспрессия PR в клетках эутопического эндометрия в фазу пролиферации (А) и секреции (Б) при эндометриозе. Иммунопероксидазный метод, ув. 200.

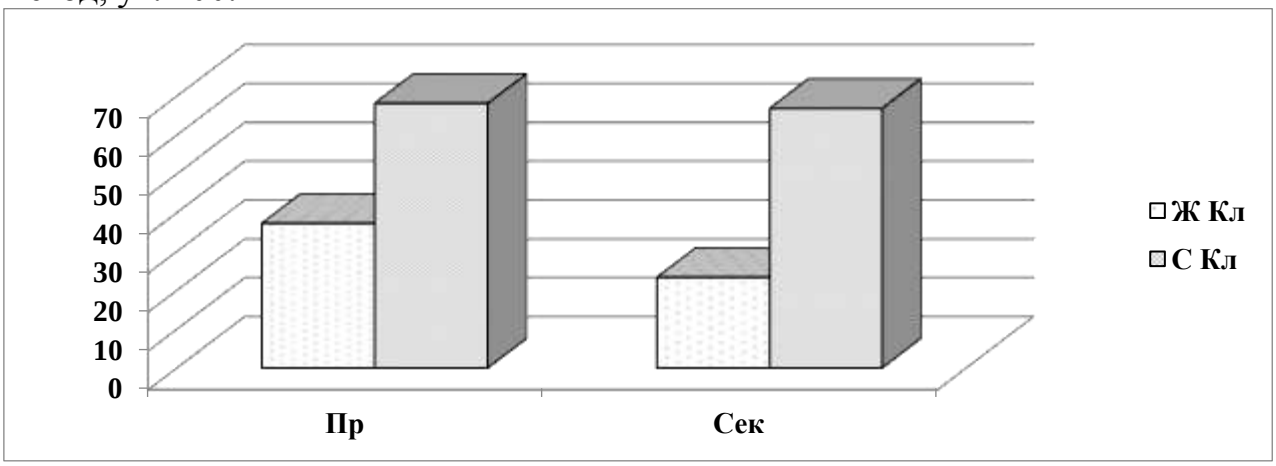

Рисунок 15. Количество иммунопозитивных к рецепторам прогестерона ядер железистых (Ж Кл) и стромальных клеток (С Кл) в эутопическом эндометрии фазы пролиферации (Пр) и секреции (Сек). По оси ординат: кол-во (%) окрашенных ядер.

У больных с эндометриозом были установлены разнонаправленные изменения в количестве иммунопозитивных на рецепторы прогестерона клеток в железах и строме эутопического эндометрия (Таблица 21). Количество окрашенных железистых клеток возрастало при III и IV стадии эндометриоза. Количество же позитивных стромальных клеток уменьшалось по мере прогрессирования заболевания, достигая минимальных значений при IV стадии эндометриоза (на 33,8% меньше соответствующих значений I стадии). В результате подобных изменений соотношение позитивных железистых и стромальных клеток в эутопическом эндометрии увеличивалось при повышении стадии эндометриоза.

Таблица 21

Количество железистых (Ж Кл) и стромальных (С Кл) клеток с иммунопозитивными к рецепторам прогестерона ядрами в эутопическом и эктопическом эндометрии при различных стадиях заболевания

	Эндометрий			Эндометриоз		
	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл
I	30,0±1,4	84,2±4,1	0,36±0,02	26,4±1,2	49,0±2,4	0,54±0,03
II	28,5±1,3	77,4±3,9	0,37±0,02	26,4±1,2	61,2±2,9	0,43±0,02
III	35,3±1,6	57,8±2,9	0,61±0,03	34,0±1,5	73,7±3,4	0,46±0,02
IV	47,1±2,3	55,7±2,6	0,85±0,04	35,6±1,6	63,7±3,1	0,56±0,03

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

Эктопический эндометрий также характеризовался разнонаправленными изменениями количества железистых и стромальных клеток, окрашенных на рецепторы прогестерона (Таблица 21, Рисунок 16). Увеличение стадии заболевания сопровождалось увеличением числа иммунопозитивных клеток эпителия желез. Минимальное количество таких клеток наблюдалось при I стадии, где оно было меньше соответствующих значений IV стадии на 33,8% ($p<0,05$). Количество же иммунопозитивных к рецепторам прогестерона стромальных клеток было минимальным при I стадии (Таблица 21, Рисунок 16).

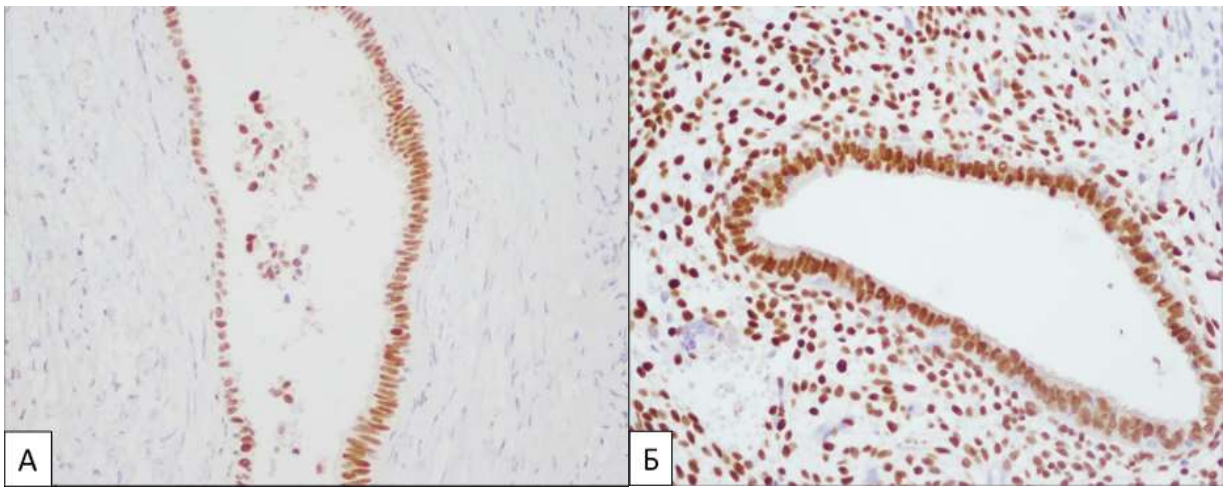

Рисунок 16. Экспрессия PR в клетках эктопического эндометрия при I (А) и III (Б) стадии эндометриоза. Иммунопероксидазный метод, ув. 200.

В наблюдениях НОР количество эпителиальных и стромальных клеток, окрашенных на рецепторы прогестерона, было меньше таковых при нормальном овариальном резерве на 16,8% и 12,1% соответственно (Рисунок 17). При этом соотношение их практически не отличается в изученных группах (Таблица 22).

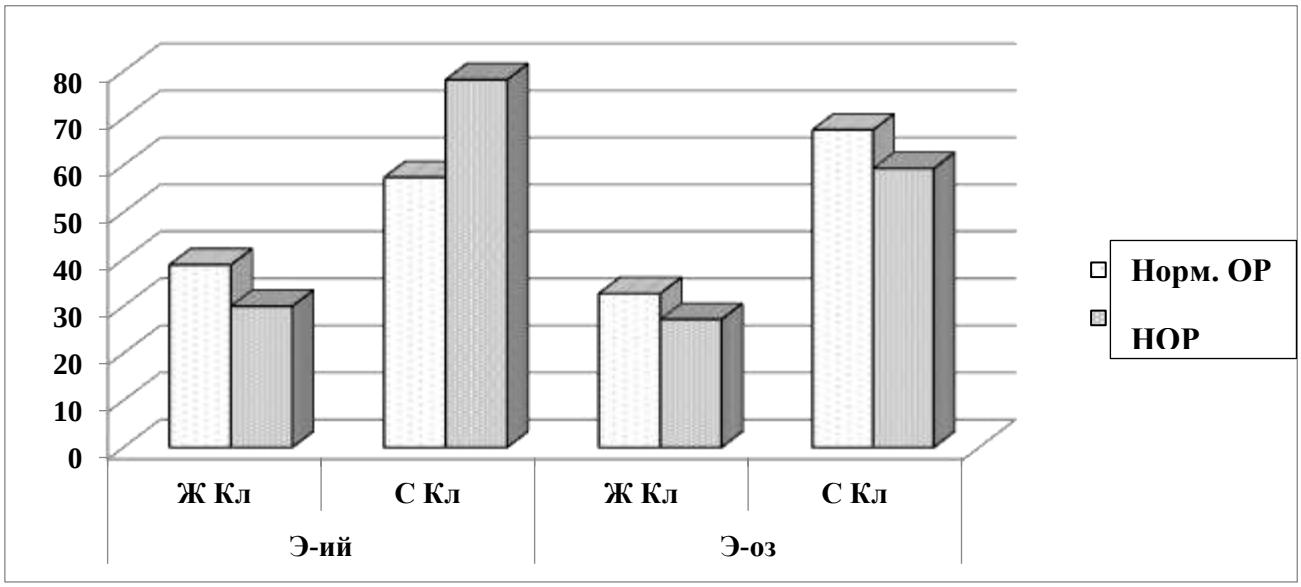

Рисунок 17. Количество железистых (Ж Кл) и стромальных (С Кл) клеток эутопического и эктопического эндометрия, окрашенных на рецепторы прогестерона, при нормальном овариальном резерве и НОР.

Таблица 22

Количество железистых (Ж Кл) и стромальных (С Кл) клеток эутопического и эктопического эндометрия, окрашенных на рецепторы прогестерона, при нормальном овариальном резерве и НОР

	Эндометрий			Эндометриоз		
	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл
Нормальный ОР	38,8±1,7	57,4±2,5	0,68±0,03	32,7±1,5	67,5±3,1	0,48±0,02
НОР	30,0±1,3	78,2±3,7	0,38±0,02	27,2±1,3	59,3±2,7	0,46±0,02

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

Отражением морфофункционального состояния эндометрия является не только количество клеток, иммунопозитивных к рецепторам эстрогена и прогестерона, но и их соотношение. Хорошо видно, что прогрессирование заболевания характеризовалось изменениями данных соотношений в эутопическом и эктопическом эндометрии при прогрессировании эндометриоза. В клетках эутопического эндометрия отмечалось повышение данного соотношения. Наиболее выраженные изменения наблюдались в эпителии желез при IV стадии, где было установлено преобладание количества клеток, окрашенных на рецепторы прогестерона. В участках эндометриоза определялись разнонаправленные изменения. В клетках эпителия желез сначала отмечается снижение данного соотношения, а при IV стадии - повышение, соответствующее показателям II стадии. В стромальных клетках при II стадии эндометриоза наблюдается повышение данного соотношения по сравнению с I стадией, а при III и IV стадиях - снижение по сравнению со II стадией, но не доходящее до значений I стадии (Рисунок 18).

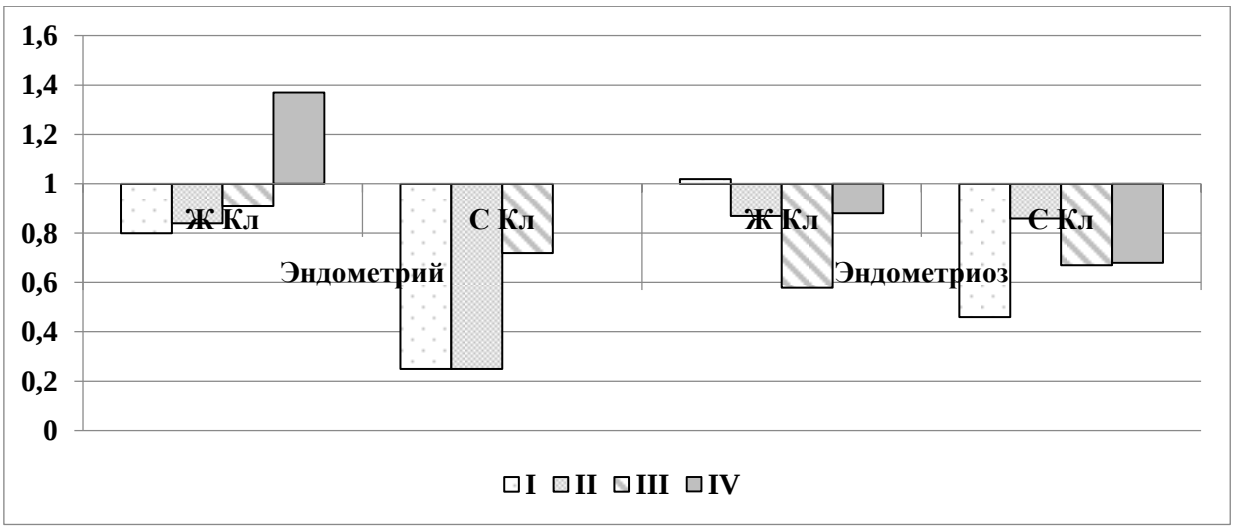

Рисунок 18. Соотношение железистых (Ж Кл) и стромальных (С Кл) клеток эутопического и эктопического эндометрия при различных стадиях эндометриоза.

Важным показателем состояния клеток и тканей считается определение индекса пролиферации. Нами для определения индекса пролиферации был использован иммуногистохимический **маркер Ki-67**. **Эутопический эндометрий** характеризовался более высокими значениями индекса пролиферации эпителиальных клеток в фазу пролиферации и стромальных клеток в фазу секреции (Рисунок 19).

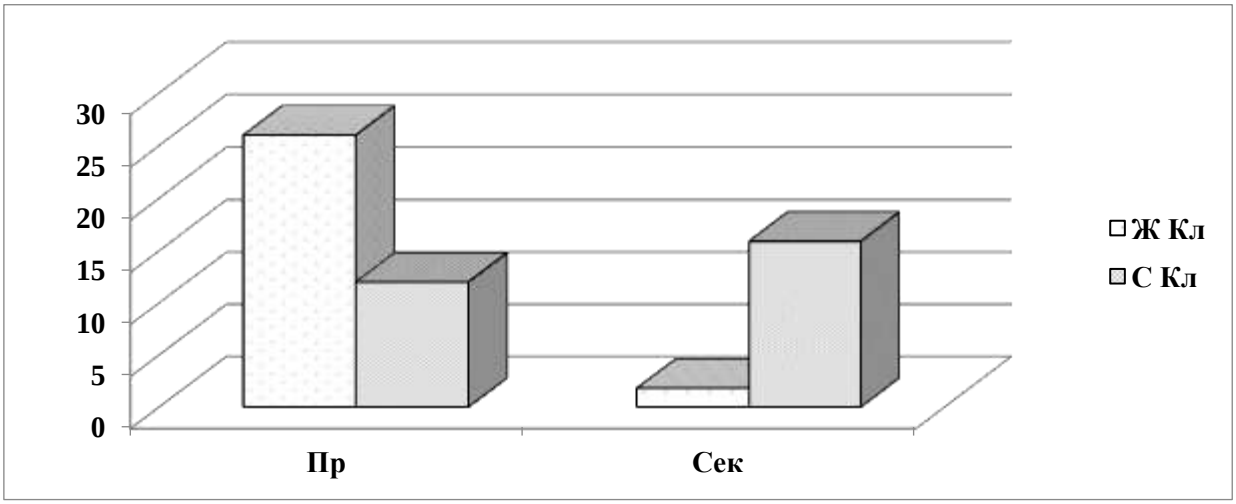

Рисунок 19. Количество пролиферирующих железистых (Ж Кл) и стромальных клеток (С Кл) в эутопическом эндометрии фазы пролиферации (Пр) и секреции (Сек). По оси ординат: % иммунопозитивных на Ki-67 ядер.

Количество пролиферирующих клеток на препаратах эутопического эндометрия зависело от стадии заболевания (Таблица 23). При II стадии эндометриоза индекс пролиферации железистых клеток был ниже (на 32,1%), а при III и IV стадиях - выше (на 36,7% и 65,3% соответственно) значений I стадии заболевания (Рисунок 20). Максимальное количество пролиферирующих стромальных клеток в эутопическом эндометрии отмечалось при III стадии эндометриоза, где оно превышало показатели I стадии заболевания на 52,5%.

Таблица 23

Индекс пролиферации (по KI-67) железистых (Ж Кл) и стромальных (С Кл) клеток в эутопическом и эктопическом эндометрии при различных стадиях эндометриоза

	Эндометрий			Эндометриоз		
	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл
I	19,6±1,8	10,1±1,2	1,94±0,11	29,2±1.4	7,0±0,9	4,17±0,22
II	13,3±1,1	11,7±1,2	1,14±0,06	29,0±1,4	10,8±1,1	2,69±0,12
III	26,8±1,2	15,4±1,3	1,74±0,08	37,2±1,9	16,2±1,2	2,30±0,15
IV	32,4±1,4	13,4±1,2	2,42±0,11	53,5±2,4	17,8±1,2	3,00 ±0,17

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

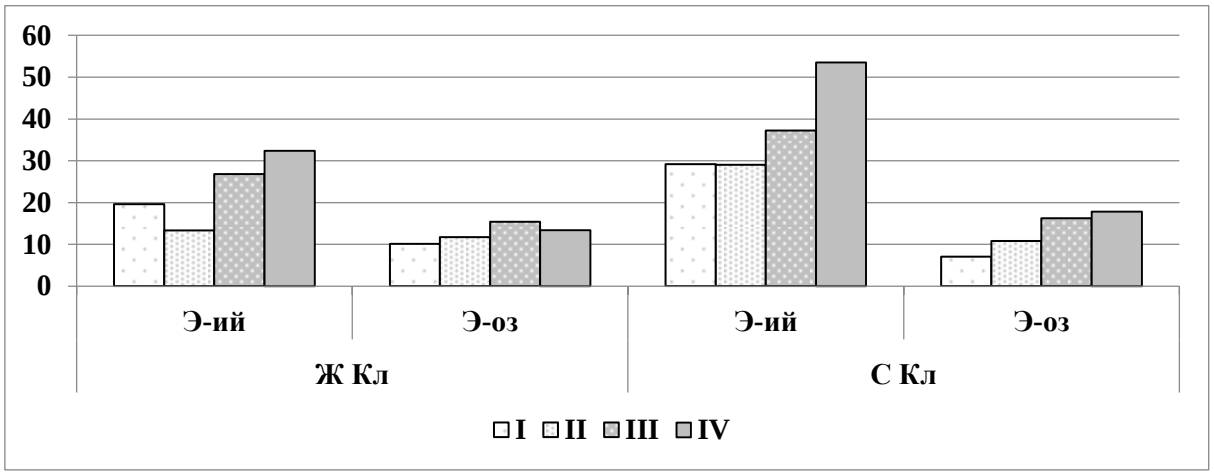

Рисунок 20. Количество пролиферирующих железистых (Ж Кл) и стромальных клеток (С Кл) в эутопическом эндометрии (Э-ий) и участках эндометриоза (Э-оз) при различных стадиях заболевания. По оси ординат: % иммунопозитивных на Ki-67 ядер.

В **эктопическом эндометрии** было установлено увеличение индекса пролиферации как в железистых, так и в стромальных клетках при прогрессировании (повышении стадии) заболевания (Рисунок 20). Максимальное количество таких пролиферирующих клеток отмечалось при IV стадии эндометриоза: количество эпителиальных клеток было на 83,2%, а стромальных клеток - на 154,3% больше значений I стадии (Рисунок 21).

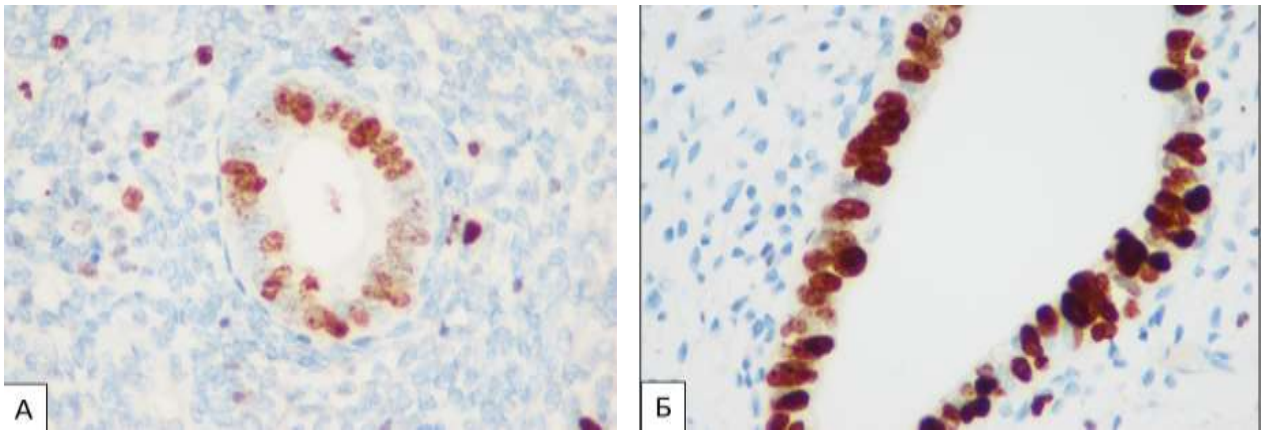

Рисунок 21. Экспрессия Ki-67 в клетках эктопического эндометрия при I (А) и IV (Б) стадии эндометриоза. Иммунопероксидазный метод, ув. 400.

На иммуногистохимических препаратах эутопического и эктопического эндометрия при НОР значение индекса пролиферации эпителиальных клеток было меньше, чем при нормальном овариальном резерве на 62,1% и 32,5%, соответственно (Таблица 24, Рисунок 22).

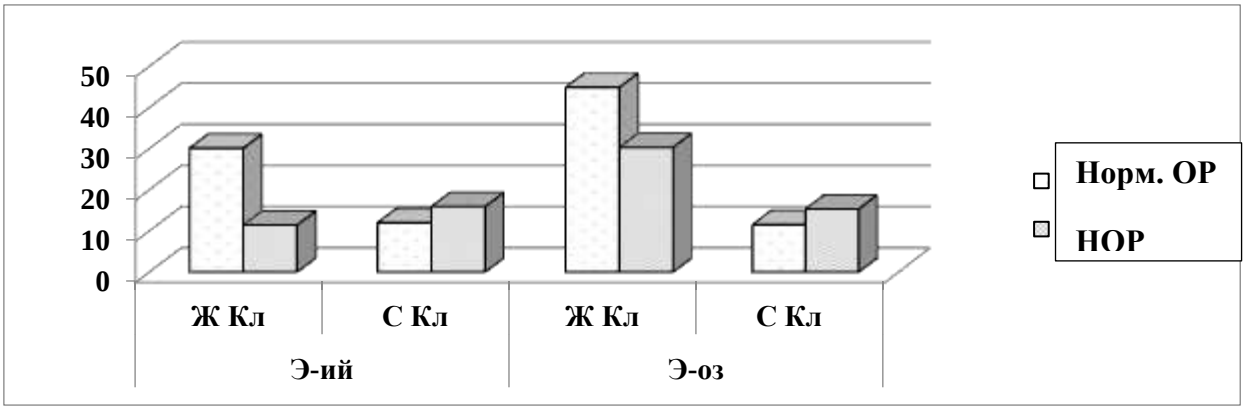

Рисунок 22. Количество пролиферирующих железистых (Ж Кл) и стромальных (С Кл) клеток эутопического и эктопического эндометрия при нормальном овариальном резерве и НОР. По оси ординат - % иммунопозитивных на Ki-67 ядер.

Количество пролиферирующих стромальных клеток при НОР, наоборот, было несколько выше аналогичных значений при нормальном овариальном резерве. При этом значение индекса пролиферации железистого эпителия в эктопическом эндометрии было выше соответствующих значений эутопического эндометрия в 1,5 раза при нормальном овариальном резерве и в 2,7 раза при НОР ($p<0,05$) (Рисунок 23).

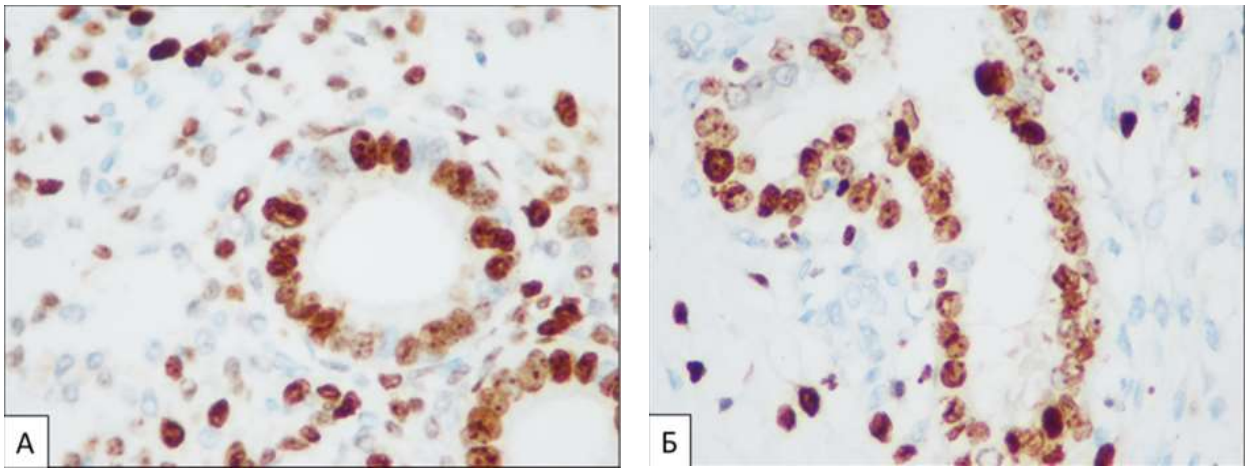

Рисунок 23. Экспрессия Ki-67 в клетках эутопического (А) и эктопического (Б) эндометрия. Иммунопероксидазный метод, ув. 400.

Таблица 24

Индекс пролиферации (по Ki-67) железистых (Ж Кл) и стромальных (С КЛ) клеток эутопического и эктопического эндометрия при нормальном овариальном резерве и НОР

	Эндометрий			Эндометриоз		
	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл	Ж Кл	С Кл	Ж Кл/ С Кл
Нормаль-ный ОР	30,1±1,6	12,0±0,7	2,51±0,12	44,9±2,8	11,5±0,8	3,9±0,17
НОР	11,4±0,9	15,9±1,1	0,72±0,04	30,3±1,7	15,3±1,3	1,98±0,14

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение

Нами также были изучены особенности **иммуногистохимической экспрессии MGMT**, осуществляющей прямую репарацию ДНК. При анализе ткани эутопического и эктопического эндометрия установлено, что положительная реакция с MGMT наблюдалась как в ядрах, так и в

цитоплазме железистых и стромальных клеток (Рисунок 24). При этом выраженность ее зависела от фазы менструального цикла и стадии эндометриоза (Рисунок 25).

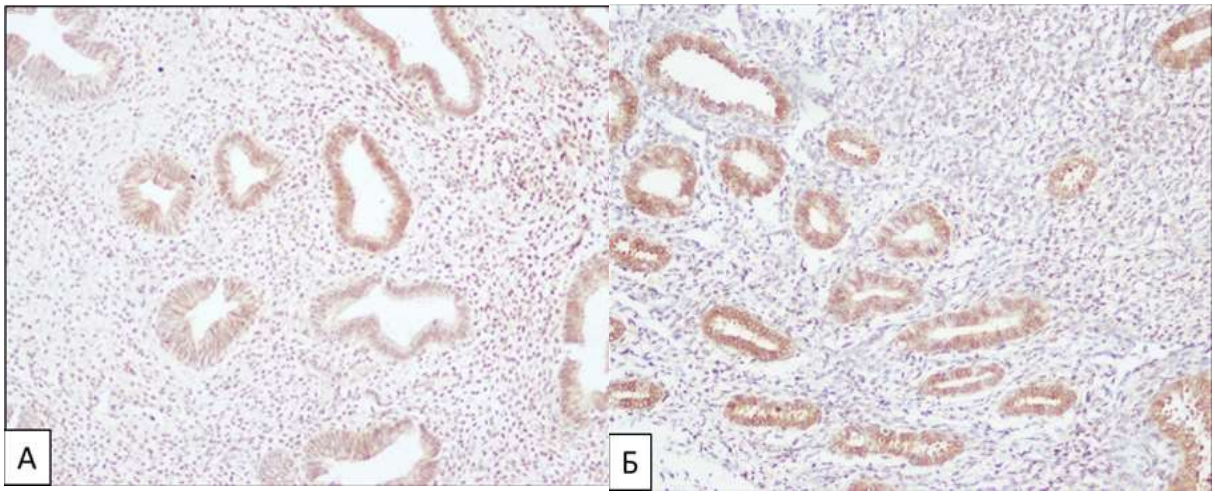

Рисунок 24. Экспрессия MGMT в клетках эутопического эндометрия в фазы пролиферации (а) и секреции (б). Иммунопероксидазный метод, ув. 200.

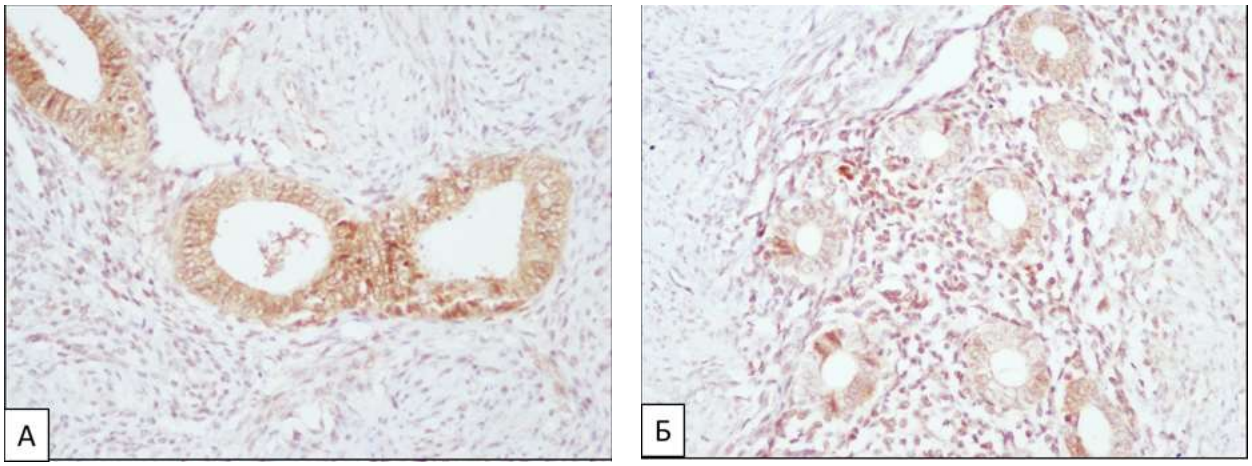

Рисунок 25. Экспрессия MGMT в клетках эктопического эндометрия при I (а) и IV (б) стадии эндометриоза. Иммунопероксидазный метод, ув. 200.

В ткани **эутопического эндометрия** наиболее высокий уровень экспрессии MGMT отмечалась в ядрах эпителиоцитов в фазу пролиферации (Рисунок 26), превышающие аналогичные показатели фазы секреции на 22,1%. При этом цитоплазматический уровень экспрессии MGMT в пролиферирующем эпителии был на 14,7% выше значений фазы секреции. В

клетках стромы, наоборот, интенсивность реакции преобладала в фазу секреции: на 22,4% в ядрах и на 6,6% в цитоплазме.

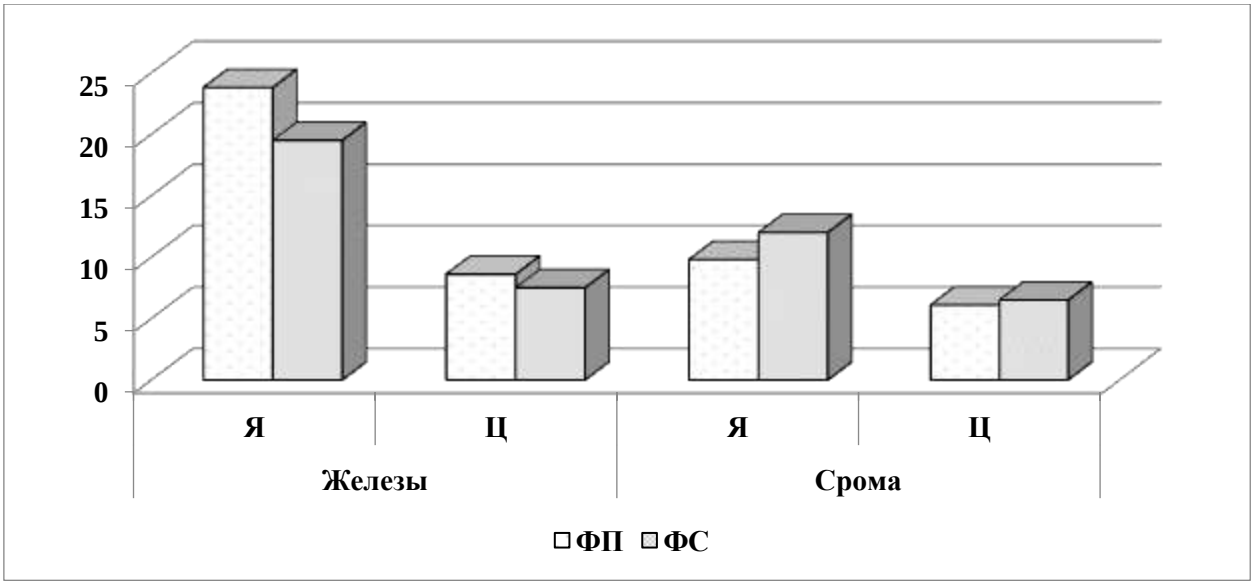

Рисунок 26. Уровень экспрессии MGMT в железистых и стромальных клетках эутопического эндометрия. По оси ординат – уровень экспрессии в усл. ед. ФП - эндометрий фазы пролиферации, ФС - эндометрий фазы секреции, Я – ядра, Ц – цитоплазма.

В участках **эндометриоза** изменение уровня экспрессии MGMT зависело от стадии заболевания. В ядрах эпителиальных клеток при I и II стадиях заболевания отмечались более высокие (на 44,1% и 30,3%, $p<0,05$) значения MGMT по сравнению с эутопическим эндометрием фазы пролиферации. При III и IV стадиях экспрессия MGMT в ядрах эпителиоцитов, наоборот, была ниже показателей нормального эндометрия на 25,2% и 10,5% соответственно. В свою очередь, значение экспрессии MGMT в цитоплазме железистых клеток была ниже (на 12,8%) значений нормального эндометрия лишь при III стадии эндометриоза.

В стромальных клетках эктопического эндометрия было установлено прогрессирующее повышение уровня экспрессии MGMT по мере возрастания стадии эндометриоза (Рисунок 27). Наиболее высокий уровень экспрессии MGMT в ядрах и цитоплазме стромальных клетках очагов

эндометриоза отмечался при IV стадии, где он превышал соответствующие показатели нормального эндометрия фазы пролиферации на 70,4% и 63,9% ($p<0,05$).

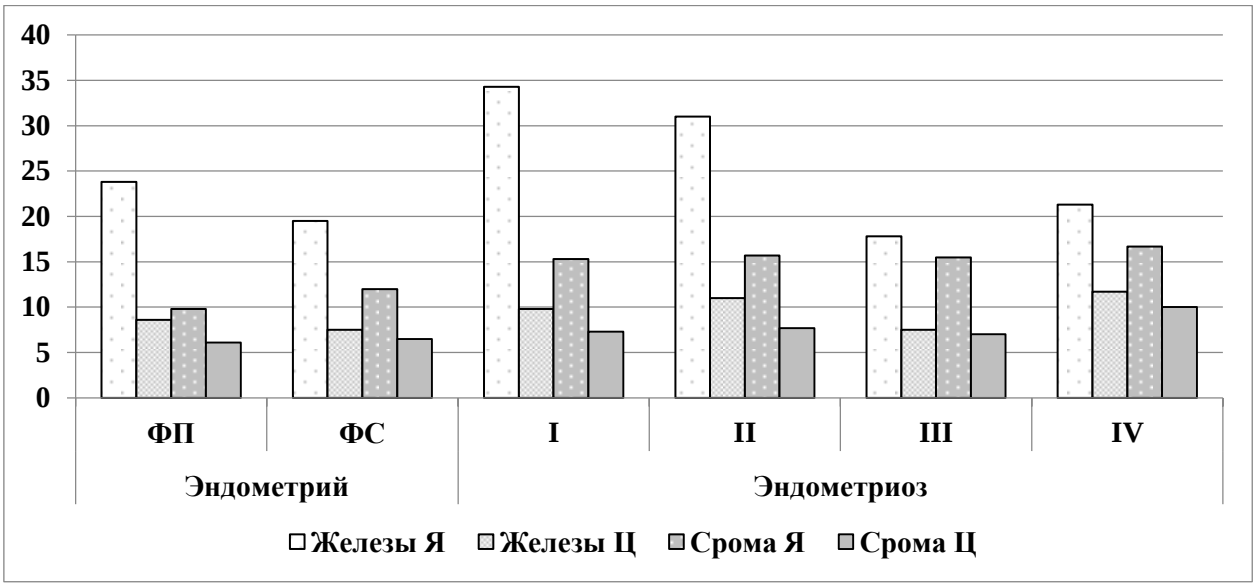

Рисунок 27. Уровень экспрессии MGMT в железистых и стромальных клетках эутопического и эктопического эндометрия при различных стадиях эндометриоза. По оси ординат – уровень экспрессии в усл. ед. I-IV - стадии эндометриоза. Я – ядра, Ц – цитоплазма.

При анализе уровня иммуногистохимической экспрессии MGMT в эутопическом эндометрии у больных с нормальным овариальным резервом и НОР обращали на себя внимание несколько пониженные значения MGMT в железистом эпителии и, наоборот, несколько повышенные - в клетках стромы у больных с НОР (Рисунок 28). В участках эктопического эндометрия НОР характеризовался более высоким по сравнению с нормальным овариальным резервом уровнем экспрессии MGMT в ядрах железистых клеток и более низкими ее значениями - в цитоплазме эпителия желез, а также в ядрах и цитоплазме стромальных клеток. Примечательно, что соотношение эпителиального и стромального уровней экспрессии имело бóльшие значения при НОР в эктопическом эндометрии (2,05 по сравнению с 1,63 в ядрах и 1,32 по сравнению с 1,27 в цитоплазме) и, наоборот, меньшие значения в

эутопическом эндометрии (1,90 по сравнению с 2,56 в ядрах и 1,27 по сравнению с 1,40 в цитоплазме).

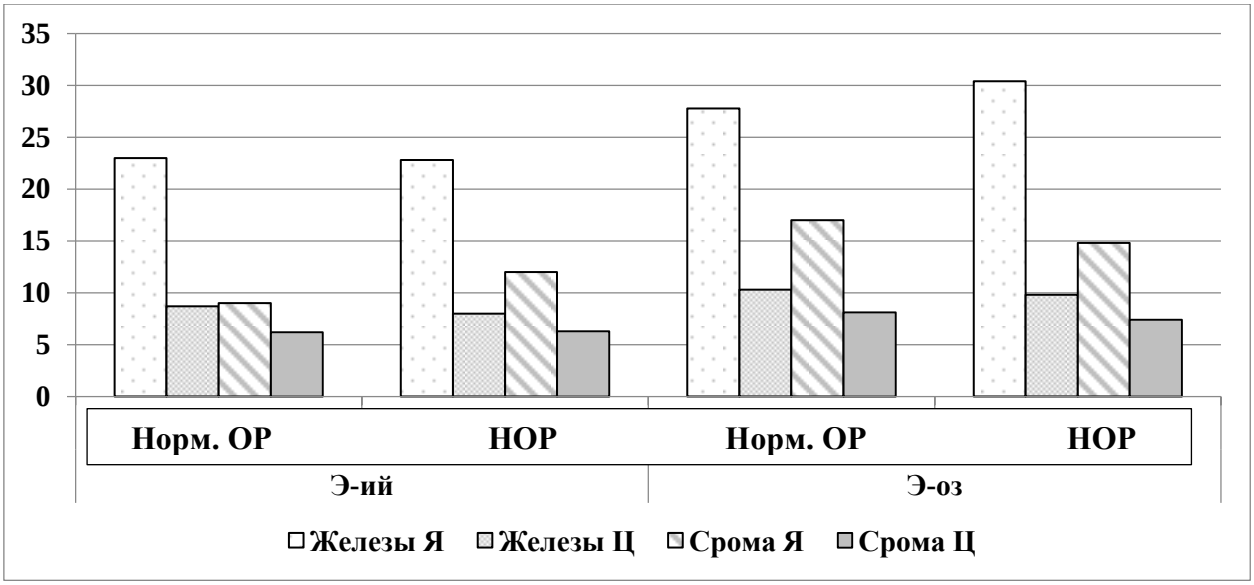

Рисунок 28. Уровень экспрессии MGMT в железистых (Ж Кл) и стромальных (С КЛ) клетках эутопического и эктопического эндометрия при нормальном овариальном резерве и НОР. По оси ординат – уровень экспрессии в усл. ед. Я – ядра, Ц – цитоплазма.

Таким образом, эпителиальные и стромальные клетки в участках эндометриоза характеризовались нарушением экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, а также показателями пролиферации и MGMT по сравнению с клетками нормального эндометрия, что зависело от стадии эндометриоза и прогнозировало развитие НОР в послеоперационном периоде у пациенток с ЭКЯ (Таблица 25).

Таблица 25

Взаимосвязь экспрессии эстрогеновых, прогестероновых рецепторов, маркера пролиферации Ki-67 и MGMT, стадии ЭКЯ и развития НОР

		Железы эутопического эндометрия	Строма эутопического эндометрия	Железы эктопического эндометрия	Строма эктопического эндометрия
ER	Ст.	↑	↑	↑	↑
	НОР	↓	↓	-	↑
PR	Ст.	↑		↑	↑
	НОР	↓	↑	-	↓
Ki-67	Ст.	↑	↑	↑	↑
	НОР	↓	-	↓	-
MGMT	Ст.	-	-	↓ядра	↑Цп,ядра
	НОР	↓	↑	↓Цп↑ядра	↓

Ст. – III-IV стадии ЭКЯ по сравнению с I-II стадиями, НОР – низкий овариальный резерв по сравнению с нормальным ОР, Цп - цитоплазма

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эндометриоидные кисты яичников оказывают негативное влияние на фертильность у значительной доли женщин репродуктивного возраста в связи с потенциальным риском снижения овариального резерва после их резекции [138]. Мы провели поиск факторов риска развития послеоперационной НОР у пациенток с ЭКЯ и разработали прогностическую модель предоперационного прогнозирования развития НОР после операции, а также шкалу оценки риска НОР после операции.

Овариальный резерв и, как следствие, репродуктивный потенциал зависит от числа и качества ооцитов. Определение уровня АМГ широко используются в качестве надежного количественного маркера овариального резерва яичников [139]. Уровень АМГ не зависит от менструального цикла, на его уровень не влияют гормональная контрацепция и агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона [140]. На основании уровня АМГ в нашем исследовании пациентки были поделены на две группы в зависимости от состояния овариального резерва через 1 год после операции: группу с НОР после операции составили 44 пациентки, у которых уровень АМГ был < 1,2 нг/мл, группу с нормальным овариальным резервом составили 70 пациенток с уровнем АМГ ≥ 1,2 нг/мл.

Так как мы применили допущение о том, что стадия эндометриоза оказывает самую значительную роль на развитие НОР после операции, изначально мы разделили пациенток на две группы в зависимости от стадии эндометриоза: группа 1 составили 70 пациенток с I-II стадиями ЭКЯ, группу 2 - 44 пациентки с III-IV стадиями ЭКЯ. Закономерно, что пациентки с более выраженными стадиями эндометриоза (группа 2) отличались от пациенток с I-II стадиями эндометриоза (группа 1) тем, что чаще имели жалобы в виде

поли- и альгоменореи, у них был больший объем яичников и диаметр кист до операции, во время лапароскопии у них чаще обнаруживалось поражение кишечника, чаще применялась операционная техника в виде иссечения, а не коагуляции очагов эндометриоза. Указанные клинико-анамнестические данные были впоследствии учтены в качестве конфаундеров при проведении многофакторного анализа.

Важно, что пациентки обеих групп имели **сопоставимый уровень АМГ до операции**. Также уровень АМГ до операции не отличался у пациенток с односторонним или двусторонним поражением яичников. Эти данные отличаются от ряда литературных данных. Так, Hwu Y.M. и соавт. (2011) предположили, что наличие ЭКЯ связано со снижением уровня АМГ в сыворотке крови [108]. А Seyhan A. и соавт. (2015), доказали, что уровень АМГ в сыворотке крови здоровых женщин значительно выше, чем у женщин с ЭКЯ: (4,20±2,26) нг/мл по сравнению с (2,81±2,15) нг/мл, соответственно [139]. Степень выраженности эндометриоза, по мнению ряда авторов, также оказывает влияние на уровень АМГ. Так, по данным Uncu G. и соавт. (2013), женщины с двусторонними ЭКЯ имеют более низкий уровень АМГ, чем пациентки с односторонними ЭКЯ: (1,56±0,24) нг/мл и (2,45±0,17) нг/мл, соответственно [141]. Возможно, отличие наших данных от представленных литературных данных связано с тем, что мы применяли строгие критерии включения в исследование и не рекрутировали пациенток со снижением овариального резерва до операции (уровень АМГ у которых был ниже 1,2 нг/мл).

После оценки клинико-анамнестических данных пациенток в зависимости от стадии ЭКЯ, на втором этапе мы проанализировали влияние различных факторов на развитие НОР после операции. Вначале мы оценили **влияние стадии ЭКЯ на развитие НОР**. Было выявлено, что при увеличении стадии эндометриоза риск НОР увеличивался **в 7 раз** (ОШ=7,1;

95% ДИ = 3,0; 16,6). Так, при III-IV стадиях эндометриоза через год после операции у 65,9% пациенток развился НОР, а при I-II стадиях - лишь у 21,4%.

Снижение овариального резерва после операции связано с проведением **цистэктомии** и иссечении очагов эндометриоза на яичниках, что ведет к травматизации и потери яичниковой ткани. Согласно рекомендациям ESHRE, цистэктомия предпочтительна для вторичной профилактики симптомов, ассоциированных с эндометриозом, и для повышения частоты спонтанной беременности [142]. Тем не менее, как в рекомендациях, так и в предыдущих исследованиях было высказано предположение о возможном послеоперационном сокращении овариального резерва, что указывает на то, что фолликулы непреднамеренно удаляются вместе с удалением стенки кисты [4, 143–145]. Было показано, что оперативная лапароскопия по сравнению с лапаротомией является хирургическим подходом и золотым стандартом для диагностики и лечения эндометриоза [146]. Имеются убедительные доказательства того, что лапароскопическая цистэктомия при ЭКЯ обеспечивает более благоприятные результаты, чем дренаж и коагуляция с точки зрения частоты рецидивов и спонтанного наступления беременности после операции [147].

Негативное влияние цистэктомии на овариальный резерв подтверждено исследованием Ozaki R. и соавт. (2016), согласно которому двусторонняя цистэктомия увеличивала шансы развития послеоперационного НОР через 3 месяца в 4,7 раз (p = 0,0010) [138]. Аналогично, Hwu Y.M. и соавт. (2011) обнаружили, что уровень АМГ в сыворотке крови пациенток, перенесших двустороннюю цистэктомию, был значительно ниже, чем у пациенток, перенесших одностороннюю цистэктомию [108]. В нашем исследовании риск развития НОР после операции не отличался у пациенток, перенесших одностороннюю или билатеральную цистэктомию (Таблица 17). Это

согласуется с данными Hart RJ, и соавт. (2008) о том, что негативное влияние на яичниковую ткань оказывает не резекция ЭКЯ, а иссечение очагов эндометриоза [147]. Действительно, в нашем исследовании **резекция очагов эндометриоза** увеличивала шансы развития НОР в **2,4 раза** (ОШ=2,4, 95% ДИ=1,04; 5,6)

Мы также провели оценку **уровня АМГ после оперативного лечения** и выявили, что уровень АМГ через год после операции значительно снизился относительно уровня АМГ до операции: (3,36±1,54) нг/мл и (1,54±1,15) нг/мл, соответственно. Эти данные согласуются с данными Biacchiardi C.P. и соавт. (2011), согласно которым концентрация АМГ в сыворотке крови значительно снижается после операции [148].

Mostaejeran F. и соавт. (2015) в своем исследовании показали, что **уровень АМГ** в сыворотке крови до и **после оперативной лапароскопии** уменьшается в группах с легкой и тяжелой **стадиями эндометриоза**, и наличие этого эффекта не зависит от стадии эндометриоза [149]. В нашем исследовании, при сравнении уровня АМГ у пациенток I-II и III-IV стадиями эндометриоза было установлено, что **при любой стадии эндометриоза, через год после операции уровень АМГ был ниже, чем до операции**. Уровень АМГ до и после операции составил (3,52±1,40) нг/мл и (1,80±1,04) нг/мл при I-II стадии эндометриоза ($p < 0,0001$) и (3,12±1,74) нг/мл и (2,79±2,03) нг/мл при III-IV стадии эндометриоза ($p < 0,0001$). Также был сделан вывод о том, что **уровень АМГ после операции был значимо ниже при III-IV стадиях** эндометриоза, чем при I-II стадиях ($p = 0,0016$), хотя до операции разницы в уровне АМГ выявлено не было, что согласуется с данными, полученными Lemos N.A. и соавт. (2008) [107].

Причины снижения уровня АМГ в сыворотке крови пациенток после оперативного лечения эндометриоза яичников многообразны: во-первых, происходит повреждение яичников, связанное с хирургической процедурой.

Вместе с новообразованием подвергается резекции нормальная ткань яичника [150]. Так, например, наличие здоровой ткани яичника было обнаружено в значительном числе образцов энуклеированных ЭКЯ [143]. Во-вторых, происходит повреждение ткани яичника от электрохирургической коагуляции при гемостазе. В-третьих, снижение овариального резерва может быть следствием ущерба для яичниковой сосудистой сети или потере здоровых фолликулов яичников в связи с послеоперационным воспалительным процессом, который всегда предшествует процессам регенерации.

Также имеется и несколько механизмов восстановления уровня АМГ в сыворотке крови. Во-первых, повышение содержания АМГ в сыворотке может отражать реперфузию яичников ткани и высвобождение АМГ клетками оставшегося фолликулярного пула яичников после физиологической реконструкции сосудистой сети яичников. Во-вторых, функция гранулезных клеток может быть гиперактивирована, компенсируя тем самым гибель части фолликулов. Хотя общее количество фолликулов может быть уменьшено после овариальной цистэктомии, секреция АМГ может быть в некоторой степени увеличена. В-третьих, согласно мнению ряда исследователей, фолликулы могут быть получены из небольшой когорты «резервных» фолликулов яичника [151]. Наконец, наиболее противоречивая теория, связанная с воспалением после операции, постулирует возможность регенерации фолликулов яичников из поверхностного эпителия яичника [152, 153] или из стволовых клетки костного мозга [154]. Таким образом, повышенный уровень АМГ в сыворотке крови с наибольшей вероятностью отражает либо реперфузию овариальной ткани и активацию фолликулов, либо регенерацию фолликулярного пула яичников [11].

Далее мы оценили влияние **суммарного объема яичников** на овариальный резерв. До операции суммарный объем яичников не отражал состояние овариального резерва ($p > 0,05$), в то время как после оперативного лечения была обнаружена значимая **корреляция** слабой силы ($r = 0,2745$, $p = 0,0030$) **между уровнем АМГ и суммарным объемом яичников после операции** (Таблица 15). Все дело в том, что суммарный объем **яичников значимо снижался после операции** при любой стадии эндометриоза. До операции суммарный объем правого и левого яичников у пациенток с I-II стадиями ЭКЯ составил (31,9±17,5) $см^3$, а через год после операции - (14,3±4,8) $см^3$ ($p = 0,0070$), у пациенток с III-IV стадиями ЭКЯ до операции суммарный объем яичников составил (57,3±30,1) $см^3$, а через год после операции - (14,8±5,0) $см^3$ ($p = 0,0491$). Таким образом, чем меньше суммарный объем яичников через год после операции, тем ниже уровень АМГ. **Снижение суммарного объема яичников** было значимым фактором, **в 3,5 раз** увеличивающим шансы развития НОР в случае снижения объема равном или более 35 $см^3$ (ОШ=3,5; 95% ДИ=1,6;7,7). Снижение суммарного объема яичников зависит от **диаметра ЭКЯ**, поэтому суммарный диаметр ЭКЯ был также значимым фактором риска развития НОР, увеличивающим шансы его развития **в 3,5 раза** в случае диаметра равного или более 7 см (ОШ=3,5; 95% ДИ=1,5;7,7).

Сам по себе дооперационный уровень АМГ является важным предиктивным фактором овариального резерва, что подтверждено в исследовании Ozaki R. и соавт. (2016), которые считают, что овариальный резерв после овариальной цистэктомии при ЭКЯ зависит, в первую очередь, от предоперационного овариального резерва [138]. Нами было определено пороговое значение АМГ, которое составило 2,50 нг/мл. При уровне АМГ до операции ниже 2,50 нг/мл, шансы развития НОР после операции возрастали **в 15,7 раз** (ОШ=15,7; 95% ДИ=5,8;42,5).

Таким образом, нами были выявлены следующие факторы риска развития послеоперационного НОР. Пациентки, у которых развился НОР, в 7,1 раз чаще имели III-IV стадию эндометриоза, в 15,7 раз чаще имели уровень АМГ до операции менее 2,5 нг/мл, в 3,5 раз чаще имели ЭКЯ с суммарным диаметром равном и более 7 см, в 3,5 раза чаще суммарный объем яичников у них снижался более 35 см^3, а также им в 2,4 раза чаще проводили резекцию очагов эндометриоза на яичниках. На основании выявленных факторов нами были созданы две прогностические модели развития послеоперационного НОР, а также шкала оценки риска НОР с определением групп низкого, среднего и высокого риска.

Роль стероидных гормонов в возникновении и прогрессировании эндометриоза остается до конца не изученной, однако стоит отметить, что эндометриоз встречается исключительно у менструирующих женщин. Согласно ряду исследований, эндометриоз, наряду с раком молочной железы, раком эндометрия, аденомиозом и лейомиомами, является эстроген-зависимым заболеванием [155]. Клетки этих опухолей обычно экспрессируют рецепторы эстрогенов (ER), прогестерона (PR) и андрогенные рецепторы. В последнее время наличие ER и PR в эндометрии человека и тканях, пораженных эндометриозом, было показано методом анализа связывания радиолигандов [156, 157], а также с применением иммуногистохимического исследования [158, 159].

С применением **иммуногистохимического исследования** также были изучены уровни экспрессии **ER и PR** в железистой ткани и строме как нормального эндометрия, так и в эндометриоидных очагах, которые находятся под тем же циклическим влиянием гормонов яичников, что и эндометрий [160]. По результатам исследования Nisolle и соавт., было показано, что содержание ER и PR в тканях, пораженных эндометриозом, было ниже, чем в нормальном эндометрии, но циклические изменения

экспрессии вышеуказанных рецепторов наблюдались синхронно в обоих видах тканей. По данным других исследователей, такие изменения в эндометриоидной ткани отсутствовали [160–162]. Таким образом, в литературе нет однозначного ответа по поводу воздействия стероидных гормонов на эндометриоидную ткань. Имеется ряд данных, свидетельствующих о потенциальной роли стероидных гормонов яичников не только в регенерации нормального эндометрия после менструации, но и в росте эндометриоидных гетеротопий.

Akihisa Suzuki и соавт. (2010) показали, что экспрессия стероидных рецепторов (ER и PR) в эутопическом эндометрии циклически изменяется во время менструального цикла: повышается в пролиферативной фазе и уменьшается в секреторной фазе. Соотношение ER / PR в эндометриоидных клетках также претерпевали циклические изменения во время менструального цикла, однако изменения были менее динамичным, чем в эутопическом эндометрии. Исследователи отмечают схожий уровень экспрессии ER и PR в эктопическом и эутопическом эндометрии как в пролиферативную, так и в секреторную фазу менструального цикла [134].

В нашем исследовании более высокие уровни экспрессии ER в железистых и стромальных клетках эутопического эндометрия отмечались в фазу пролиферации (40,3% и 38,8%, соответственно), по сравнению с фазой секреции (23,9% и 20,7% соответственно). В секреторную фазу экспрессия PR в железах как в эктопическом, так и в эутопическом эндометрии была ниже, чем в фазу пролиферации. Аналогичная связь наблюдалась в строме при эндометриозе. Однако в эутопическом эндометрии связи уровня экспрессии PR с фазой менструального цикла не было обнаружено.

Angelo Calcagno (2011) в своем исследовании отметил, что в эутопическом эндометрии экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона предсказуемо изменяется в зависимости от фазы менструального цикла;

рецептор эстрогена менее сильно выражен как в железистых, так и в стромальных клетках, а рецепторы прогестерона сильно выражены в компоненте стромы во время секреторной фазы. Подобные циклические изменения не наблюдались в эндометриоидной ткани [136]. Экспрессия рецепторов стероидных гормонов ниже в эктопическом, чем в эутопического эндометрии. В частности, она была более низкой в ткани эндометриоза яичников, чем при других локализациях эндометриоза и в пролиферативной, и в секреторной фазах менструального цикла. Таким образом, исследование Angelo Calcagno подтверждает данные других исследователей (Bergqvist и др, 1993 [162]; Nisolle и др, 1997 [163]).

Напротив, в своем исследовании M S Khan (1999) не выявил различий экспрессии всех трех белков (ER, PR, Ki67) в различные фазы менструального цикла [164]. Была показана более высокая экспрессия этих белков в очагах эндометриоза вне зависимости от фазы менструального цикла.

K N Khan (2008) оценил экспрессию ER и PR в эндометриоидной ткани и в нормальном эндометрии и выявил, что самый высокий уровень ER и PR наблюдался в эпителиальных и стромальных клетках нормального маточного эндометрия на ранней пролиферативной фазе менструального цикла [165]. Показатели уровня ER и PR снижались на протяжении секреторной фазы. В ткани эндометриоидного очага показатели ER и PR постоянно были высокими, независимо от менструального цикла.

В своем исследовании Сонова М.М. (2009) выявила, что уровень ER значимо повышался по мере прогрессирования заболевания как в эутопическом, так и в эктопическом эндометрии [166].

Нами была подтверждена данная теория. Было выявлено, что при увеличении стадии эндометриоза увеличивалась экспрессия как эстрогеновых рецепторов в железах и в строме, так и прогестероновых

рецепторов в железах эутопического эндометрия. Так, при I и II стадиях ЭКЯ экспрессия составила 30% и 28,5%, при III и IV стадиях - 35,9% и 47,0%, соответственно. Такая же связь наблюдалась в железах и строме эктопического эндометрия. Мы сделали вывод о том, что **чем больше стадия эндометриоза, тем больше экспрессия прогестероновых и эстрогеновых рецепторов.**

В своем исследовании M S Khan (1999) показал, что экспрессия всех трех белков (ER, PR, Ki-67) не отличается в различные фазы менструального цикла, в то время как в эндометриоидных очагах экспрессия выше перечисленных белков была выше как в пролиферативную, так и в секреторную фазы менструального цикла [164].

Alif M (2013), напротив, показал, что при эндометриозе пролиферация клеток усиливается в пролиферативную фазу цикла, и отмечается снижение пролиферативной активности в секреторной фазе [167].

Экспрессия **Ki-67** в различные фазы менструального цикла в исследовании M S Khan (1999) не различалась. Однако был показан более высокий уровень экспрессии данного белка в очагах эндометриоза [164].

Нами было показано, что более высокие уровни экспрессии Ki-67 в железах эутопического эндометрия отмечались в фазу пролиферации - 26,0%, в то время как в фазу секреции этот показатель составил 1,7%, что согласуется с данными исследования Calcagno A (2011), согласно которым экспрессия Ki-67 в эутопическом эндометрии в пролиферативной фазе выше, чем в секреторной фазе, и также выше, чем в эктопическом эндометрии и эндометриоидных кистах яичников, вне зависимости от фазы менструального цикла.

Также Suzuki A в 2010 году в своем исследовании выявил, что экспрессия Ki-67 в эутопическом эндометрии значительно ниже в секреторной фазе цикла, по сравнению с пролиферативной фазой. При этом,

экспрессия Ki-67 в эктопическом эндометрии не зависит от фазы менструального цикла. В пролиферативной фазе цикла экспрессия Ki-67 значимо ниже в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим эндометрием, в то время как в секреторную фазу эктопический и эутопический эндометрий не различаются по экспрессии Ki-67 [134].

Наблюдательное исследование, проведенное Elvira Brătilă (2015) с участием 56 пациентов с диагнозом эндометриоз III и IV стадии, соответствует результатам работы Алифом и соавт., опубликованной в 2013 году [167]. В обеих работах была проанализирована корреляция между экспрессией Ki-67, размером эндометриоидных кист яичников, а также стадии эндометриоза. Результаты исследований показывают важную взаимосвязь между экспрессией белка Ki-67 и размерами ЭКЯ [132]. По данным авторов, Ki-67 указывает на увеличение клеточной активности, что объясняет его прямую связь со степенью тяжести заболевания [168, 169]. Когда скорость распространения патологических клеток повышается, клетки становятся независимыми (автономными) и воздействуют на окружающие ткани. Экспрессия маркера Ki-67 в анализируемых случаях была изменчивой, и плохо соотносилась со стадией заболевания. Уровень экспрессии этого маркера был низким (менее 5%) в 50% образцов эндометриоза II стадии. Экспрессия Ki-67 была отмечена (35%) на компонентах эпителия, как на ранних стадиях, так и при III стадии эндометриоза.

В отличие от данных, описанных Li и соавт. [168] и Kahyaoglu и соавт. [169], исследование Elvira Brătilă (2015) не выявило корреляции между выраженностью экспрессии белка Ki-67 и стадией заболевания, поскольку он представляет собой маркер агрессивности, который наилучшим образом описывает скорее степень или скорость распространения процесса, чем действительную стадию эндометриоза. В одном случае эндометриоза II стадии авторы идентифицировали белок Ki-67 в очень высоком проценте

случаев - более 90%. Это могло свидетельствовать об агрессивных формах заболевания, при которых уровень Ki-67 также высок в начальных стадиях, как в случаях, диагностированных на поздних стадиях заболевания [132].

Другой коллектив авторов, в свою очередь, продемонстрировал положительную корреляцию между уровнем экспрессии маркера пролиферации Ki-67 и объемом ЭКЯ [132].

Нами было выявлено, что **с увеличением стадии заболевания отмечалось увеличение экспрессии Ki-67** в железистом компоненте как в эутопическом эндометрии, так и в эктопическом, однако при I стадии были обнаружены случаи, в которых уровень Ki-67 был достаточно высок. Alif M (2013) считал, что что пролиферативная активность эндометриоидных клеток зависит от фазы менструального цикла [167]. Однако, как и среди наших наблюдений, в его исследовании был один случай, в котором экспрессия Ki-67 была крайне низка, не смотря на большой диаметр кисты. Можно сделать вывод о том, что это может быть вызвано тем, что операция производилась в секреторной фазе менструального цикла, в котором пролиферативная активность ниже, чем в пролиферативной фазе.

Inci Kahyaoglu (2012) с соавт. сделали вывод о том, что когда стадия заболевания возрастает, пролиферация эктопического эндометрия неуклонно увеличивается, что сопровождается повышением индекса Ki-67 [169]. С повышением пролиферативного потенциала, они получают автономию и становятся схожи с опухолевыми клетками. Они повреждают окружающие ткани, и, в конце концов, приводят к формированию плотных спаек и нарушению анатомии соседних органов. Наличие постклимактерических наблюдений эндометриоза и увеличения экспрессии антиапоптотического гена bcl-2 в эктопическом эндометрии, наряду с повышением синтеза Ki-67, подтверждает наличие автономного потенциала этой ткани [170, 171]. Хотя эндометриоз считается гормонозависимым заболеванием, он имеет

некоторые другие свойства, характерные для опухолей, такие как высокий уровень инвазии и тенденцию к распространению, а также последующее повреждение органов-мишеней с прогрессированием заболевания. Дальнейшие исследования, проводимые в этой области, необходимы для уточнения патогенеза эндометриоза и разработки новых методов лечения [169].

О6-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза (**MGMT**) относится к основным специфическим ферментам, осуществляющим прямую репарацию ДНК путем отщепления метильной группы с позиции О-6 на гуанине и переноса ее на один из собственных остатков цистеина, устраняя таким образом повреждения ДНК [172]. MGMT участвует в целом ряде процессов, связанных с репарацией ДНК, в частности, в метилировании, лигировании, деалкилировании (деметилировании) ДНК, а также в апоптозе и дифференцировке клеток. Ген *MGMT* локализуется на хромосоме 10 в позиции 10q26 и кодирует пять экзонов и четыре интрона.

Согласно данным литературы [173], важным звеном канцерогенеза считается метилирование ДНК. Подобная модификация молекул ДНК без изменения первичной нуклеотидной последовательности ДНК рассматривается в качестве эпигенетической составляющей генома. Метилирование промотора гена MGMT определяется при разных видах опухолей и предопухолевых поражений. Так, метилирование промотора MGMT выявлено при раке толстой кишки, молочной железы, опухолях мозга [174]. При изучении различных гистологических форм рака толстой кишки, более высокий уровень экспрессии MGMT чаще отмечался при тубулярной аденокарциноме, а низкий - при перстневидно-клеточном раке [127].

Наиболее часто используемым методом оценки статуса MGMT является иммуногистохимический анализ экспрессии белка MGMT [126, 127]. Так, M. Brell с соавт. [175] показали связь между

иммуногистохимическим выявлением MGMT и показателями выживаемости больных с анапластическими глиомами, которым была проведена химиотерапия. Другие исследователи рекомендуют использовать исследование уровня белка MGMT в качестве надежного и доступного метода определения чувствительности (резистентности) больных с глиобластомой к препаратам нитрозомочевины [176].

При анализе данных литературы об изменениях экспрессии MGMT, обращает на себя внимание неоднозначность полученных результатов. При изучении образцов тканей при пищеводе Барретта, включая наблюдения клеточной метаплазии, интраэпителиальной неоплазии и аденокарциномы, установлено снижение уровня иммуногистохимической экспрессии белка MGMT, которое значимо коррелирует с увеличением размеров опухоли и прогрессированием заболевания, а также с наличием лимфогенных метастазов [177]. При этом иммуногистохимический индекс был равен 2 в случаях метилирования промотора гена MGMT, и 8 - когда оно отсутствовало [177]. Таким образом, гиперметилирование промотора гена MGMT сопровождается снижением экспрессии белка MGMT, что подтверждает концепцию об инактивации опухолевых генов-супрессоров путем метилирования в качестве одного из этапов многоступенчатого процесса канцерогенеза.

В то же время, иммуногистохимическими методами показана высокая экспрессия MGMT в ядрах эпителиоцитов эндометрия и её снижение или полное отсутствие в стромальных клетках нормального и опухолевого эндометрия. В наблюдениях рака яичников с метилированием промотера гена *MGMT* отмечался высокий уровень иммуногистохимического окрашивания [178]. Примечательно, что при иммуногистохимическом изучении препаратов рака эндометрия выявлено отсутствие реакции на MGMT в 36% наблюдений и, наоборот, положительная реакция на p53 -

супрессора опухолей - в 63,9% случаев. На основании того, что почти во всех образцах, где отмечалась отрицательная реакция на MGMT, определялась экспрессия p53, авторы [126] сделали заключение, что p53 может ингибировать MGMT или, наоборот, MGMT влияет на экспрессию p53.

Весьма интересные данные были получены при сравнительном иммуногистохимическом изучении экспрессии MGMT при гиперплазии и аденокарциноме эндометрия [179]: повышение уровня экспрессии при простой и комплексной гиперплазии, максимальные значения при гиперплазии с атипией и интраэпителиальной неоплазии, снижение в наблюдениях высокодифференцированной эндометриоидной аденокарциномы.

Имеющаяся неоднозначность данных в отношении закономерностей изменения экспрессии MGMT может быть связана с рядом фактором. Прежде всего, по нашему мнению, это может быть обусловлено различными методическими подходами оценки уровня экспрессии на иммуногистохимических препаратах. Одни исследователи оценивают уровень экспрессии в баллах по количеству окрашенных клеток [127], другие - также в баллах, но исходя из количества иммунопозитивных клеток и интенсивности их окрашивания [126].

В нашем исследовании проводилась количественная оценка уровня экспрессии MGMT. Именно использование системы анализа изображения позволило количественно определить и сравнить интенсивность иммуногистохимической реакции в ядрах и цитоплазме эпителиальных и стромальных клеток эутопического и эктопического эндометрия. В ткани эутопического эндометрия наиболее высокие уровни экспрессии MGMT были установлены в ядрах эпителиоцитов в фазу пролиферации. В участках эндометриоза наблюдалось повышение уровня экспрессии MGMT в ядрах эпителиоцитов при I и II стадиях и снижение - при III и IV стадиях ЭКЯ. В то

время как в ядрах и цитоплазме стромальных клеток отмечалось прогрессирующее увеличение значений по мере повышения стадии эндометриоза.

Следовательно, **выраженность экспрессии MGMT зависела от внутриклеточной локализации и стадии течения эндометриоза**. Более низкие по сравнению с эутопическим эндометрием показатели MGMT в ядрах эпителиоцитов при III и IV стадиях, свидетельствуют о нарушениях репарации ДНК, которые, видимо, являются одним из звеньев развития и прогрессирования эндометриоза.

Интересными были полученные данные об изменении экспрессии изучаемых маркеров **при развитии НОР** в послеоперационном периоде. Как известно, факторами риска развития низкого овариального резерва являются поздний репродуктивный возраст, оперативные вмешательства на яичниках в анамнезе, применение химиотерапии и другие воздействия, приводящие к повреждению яичниковой ткани. Поэтому, для большинства пациенток с НОР характерен дефицит половых гормонов [10], [93], [94], [105]. В нашем исследовании у пациенток, развивших в дальнейшем НОР, отмечалась более низкая экспрессия ER и PR в железах и строме эутопического и эктопического эндометрия за исключением стромы эутопического эндометрия для PR и стромы эктопического эндометрия для ER. Это свидетельствует о снижении рецепции эндометрия на дооперационном этапе и может явиться предиктивным фактором у пациенток с ЭКЯ в плане развития у них НОР в послеоперационном периоде.

Экспрессия маркера Ki-67 у пациенток с НОР была несколько ниже по сравнению с пациентками с нормальным овариальным резервом. Маркер Ki-67 является маркеров агрессивности эндометриоза, и мы ожидали обнаружить большую его экспрессию у пациенток с НОР, так как у них чаще отмечалась более выраженная стадия заболевания. Однако, как было описано

выше, экспрессия данного маркера зависит от фазы менструального цикла. Проанализировав данные, мы обнаружили, что среди пациенток с НОР было больше тех, кому операция проводилась в секреторной фазе цикла. Поэтому, мы объясняем данный тренд тем, что у большинства пациенток с НОР операция производилась в секреторной фазе менструального цикла, в котором пролиферативная активность ниже, чем в 1-й фазе цикла.

Экспрессия маркера репарации ДНК MGMT у пациенток с НОР была разнонаправленной: повышалась в строме эутопического эндометрия и в ядрах желез эктопического эндометрия и понижалась в строме эутопического и эктопического эндометрия, и в цитоплазме желез эктопического эндометрия. Мы не нашли данных литературы, которые бы описывали изменение экспрессии MGMT у пациенток с эндометриозом в зависимости от овариального резерва. Так как выраженность экспрессии MGMT зависит от внутриклеточной локализации и стадии течения эндометриоза, свидетельствующих о нарушениях репарации ДНК, можно заключить, что выявленные изменения могут являться патогенетическим звеном снижения овариального резерва после резекции эндометриоидных кист яичников, что связано с более агрессивным течением заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Пациентки с более выраженными стадиями эндометриоидных кист яичников (III-IV стадиями) чаще предъявляют жалобы на поли- и альгоменорею, имеют больший объем яичников и диаметр эндометриоидных кист до операции, у них чаще применяется операционная техника в виде иссечения, а не коагуляции очагов эндометриоза по сравнению с пациентками с I-II стадиями эндометриоидных кист яичников.

2. Стадия эндометриоидных кист яичников оказывает выраженное влияние на снижение овариального резерва после их оперативного удаления. При наличии III-IV стадий эндометриоидных кист яичников шансы развития послеоперационного низкого овариального резерва возрастают в 7 раз (ОШ=7,1; 95% ДИ = 3,0; 16,6).

3. Вне зависимости от стадии эндометриоза и объема оперативного вмешательства на яичниках у всех пациенток через год после операции отмечается снижение показателей овариального резерва по сравнению с дооперационным этапом. При этом тактика оперативного вмешательства оказывает влияние на риск развития низкого овариального резерва после операции: резекция очагов эндометриоза увеличивает его шансы в 2,4 раза (ОШ=2,4, 95% ДИ=1,04; 5,6).

4. Наиболее значимое влияние на снижение овариального резерва после операции оказывает дооперационный уровень АМГ. При уровне АМГ до операции ниже 2,50 нг/мл, шансы развития НОР после операции возрастают в 15,7 раз (ОШ=15,7; 95% ДИ=5,8;42,5).

5. Суммарный объем яичников значимо снижается после операции при любой стадии эндометриоза и влияет на уровень АМГ. Снижение суммарного объема яичников равном или более 35 см^3 увеличивает шансы развития низкого овариального резерва в 3,5 раз (ОШ=3,5; 95% ДИ=1,6;7,7).

Снижение суммарного объема яичников зависит от диаметра эндометриоидных кист яичников, что также является значимым фактором риска развития низкого овариального резерва. Наличие эндометриоидных кист диаметром равном или более 7 см увеличивает шансы развития послеоперационного низкого овариального резерва в 3,5 раз (ОШ=3,5; 95% ДИ=1,5;7,7).

6. При увеличении стадии эндометриоза происходит изменение экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону, и маркера пролиферации Ki-67: экспрессия ER и Ki-67 увеличивается в железах и строме как эутопического, так и эктопического эндометрия; экспрессия PR также увеличивается в железах и строме эктопического эндометрия и железах эутопического эндометрия, снижаясь в его строме.

7. При увеличении стадии эндометриоза происходит изменение экспрессии маркера репарации ДНК MGMT: снижается в ядрах желез и повышается в ядрах и цитоплазме стромальных клеток эктопического эндометрия. Экспрессия MGMT в ядрах железистого эпителия эктопического эндометрия ниже, чем в эутопическом эндометрии.

8. У пациенток с последующим развитием низкого овариального резерва в послеоперационном периоде происходит изменение экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону, и маркера пролиферации Ki-67 в железах эутопического эндометрия происходит снижение экспрессии ER, PR и Ki-67; в строме эутопического эндометрия происходит снижение экспрессии ER, но повышается экспрессия PR; в железах эктопического эндометрия происходит снижение экспрессии Ki-67, а в строме эктопического эндометрия - повышение экспрессии ER и снижение экспрессии PR.

9. У пациенток с последующим развитием низкого овариального резерва в послеоперационном периоде происходит изменение экспрессии

маркера репарации ДНК MGMT: снижение экспрессии в железах эутопического эндометрия, цитоплазме эпителия желез, ядрах и цитоплазме стромальных клеток эктопического эндометрия; повышение в строме эутопического эндометрия и ядрах железистых клеток эктопического эндометрия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На дооперационном этапе пациенткам с эндометриоидными кистами яичников следует определять уровень АМГ в сыворотке крови и измерять суммарный диаметр эндометриоидных кист с помощью УЗИ для оценки индивидуального риска развития низкого овариального резерва после оперативного лечения и выбора оптимальной тактики ведения таких пациенток.

2. На основании выявленных факторов риска развития послеоперационного низкого овариального резерва разработана модель прогнозирования данного осложнения в зависимости от предоперационного уровня АМГ и суммарного диаметра эндометриоидных кист яичников, которая может быть использована в клинической практике для расчета индивидуального риска снижения овариального резерва яичников и выбора оптимальной тактики ведения пациенток с ЭКЯ.

$$P(НОР) = \left(\frac{Exp\,[1{,}84 - 1{,}06 * АМГ + 0{,}13 * ЭКЯ]}{1 + Exp\,[1{,}84 - 1{,}06 * АМГ + 0{,}13 * ЭКЯ]}\right) * 100\%$$

где Р (НОР) - вероятность развития низкого овариального резерва, Exp - экспонента, АМГ - уровень АМГ в нг/мл, ЭКЯ - диаметр ЭКЯ в см

3. На основании выявленных факторов риска развития послеоперационного низкого овариального резерва разработана шкала оценки риска низкого овариального резерва после операции и определены критерии низкого, среднего и высокого риска. Разработанная шкала позволяет идентифицировать пациенток группы высокого риска развития низкого овариального резерва на дооперационном этапе, что позволит лечащим врачам выбирать оптимальную тактику ведения таких пациенток и

альтернативные методы лечения для предотвращения дальнейшего снижения овариального резерва, особенно у пациенток, страдающих бесплодием.

Шкала оценки риска развития НОР после операции

Фактор риска	Результат	Баллы
Стадия эндометриоза	I-II	1
	III-IV	**3**
АМГ до операции (нг/мл)	≥2,5	1
	<2,5	**6**
Суммарный диаметр кист (см)	<7	1
	≥7	**2**
Снижение объема яичников ($см^3$)	<35	1
	≥35	**2**
Резекция очагов эндометриоза	Нет	0
	Да	**1**

4 балла – риск низкий; 5-9 баллов – риск средний; 10-14 баллов – риск высокий

4. У пациенток группы высокого риска развития послеоперационного низкого овариального резерва при нереализованной репродуктивной функции предпочтительно воздержаться от резекции очагов эндометриоза в пользу их коагуляции, а в случае наличия эндометриоидных кист яичников малых размеров (менее 4 см) отложить оперативное лечение в пользу реализации репродуктивной функции, в том числе с помощью методов ВРТ.

5. У пациенток группы высокого риска развития послеоперационного низкого овариального резерва при нереализованной репродуктивной функции в случае невозможности отложить оперативное лечение рекомендовано банкирование ооцитов для последующей реализации репродуктивной функции с помощью методов ВРТ.

6. Пациентки должны быть проинформированы о том, что после лапароскопической операции по поводу эндометриоза яичников происходит

снижение овариального резерва, и они подвержены риску возникновения низкого овариального резерва, поэтому подготовка к программам ВРТ должна быть начата заблаговременно.

7. Выявленные иммуногистохимические критерии, характеризующие экспрессию рецепторов к эстрогенам и прогестерону, маркера пролиферации Ki-67 и маркера репарации ДНК MGMT, у пациенток с последующим развитием низкого овариального резерва могут быть использованы для предикции развития данного осложнения в случае рецидива заболевания.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМГ – антимюллеров гормон
AUC – area under the curve (площадь под кривой)
ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
ДАБ – диаминобензидин
ДИ – доверительный интервал
ДНК – дизоксирибонуклеиновая кислота
Ж Кл – железистые клетки
ИГХ – иммуногистохимия
ИР – индекс резистентности
ММП – матриксные металлопротеиназы
НГЭ – наружный генитальный эндометриоз
НОР – низкий овариальный резерв
ОР – относительный риск
ОШ – отношение шансов
п/о – после операции
ПИ – пульсационный индекс
Пр – пролиферация
ПСС – пиковая систолическая скорость
РНК – рибонуклеиновая кислота
С КЛ – стромальные клетки
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФСГ - фолликулостимулирующий гормон
ЭКЯ – эндометриоидные кисты яичников
E2 – эстрадиол
ER – рецептор эстрогена
ESHRE – Европейского общества по репродукции человека и эмбриологии
ITGB2 – Интегрин бета-2
ITGB7 – Интегрин бета-7
Ki-67 – рецептор пролиферации
PR – рецептор прогестерона
MGMT – O(6)-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза
MCP-1 – моноцитарный хемотаксический протеин
p53 – транскрипционный фактор
VEGF – фактор роста эндотелия сосудов
R-AFS – классификация Американского общества фертильности

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян. Л.В. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация / под ред. Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева, И.А. Аполихина, В.Ф. Беженарь. – М., 2013. – 65 с.

2. Immunohistochemical analysis of CA125, CA19-9, and Ki-67 in stage III or IV endometriosis: positive correlation between serum CA125 level and endometriotic epithelial cell proliferation / Toki T. [et al.] // Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica. – 2000. – Vol. 79 – № 9. – P. 771–776.

3. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome / Mantzoros C.S. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2000. – Vol. 15 – № 3. – P. 539–544.

4. Analysis of risk factors for the removal of normal ovarian tissue during laparoscopic cystectomy for ovarian endometriosis / Matsuzaki S. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2009. – Vol. 24 – № 6. – P. 1402–1406.

5. Адамян Л.В. Сочетанные доброкачественные опухоли и гиперпластические процессы матки (миома, аденомиоз и гиперплазия эндометрия) / под ред. Л.В. Адамян. М., 2015. – 104 с.

6. Adamson G.D. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system / Adamson G.D., Pasta D.J. // Fertility and sterility. – 2010. – Vol. 94 – № 5. – P. 1609–1615.

7. Oocyte quality is decreased in women with minimal or mild endometriosis / Xu B. [et al.] // Scientific reports. – 2015. – Vol. 5. – P. 10779.

8. Назаренко Т.А. Ингибин В как маркер овариального резерва у женщин с различными формами бесплодия / Назаренко Т.А., Мишиева Н.Г., Фанченко Н.Д. // Проблемы репродукции. – 2005. – № 1. – С. 15–20.

9. Antimullerian hormone levels after laparoscopic endometrioma stripping surgery / Ercan C.M. [et al.] // Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology. – 2010. – Vol. 26 – № 6. – P. 468–472.

10. The impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve in patients with unilateral and bilateral endometriomas / Alborzi S. // Fertility and sterility. – 2014. – Vol. 101 – № 2. – P. 427–434.

11. Impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve: serial changes of serum anti-Müllerian hormone levels / Chang H.J. [et al.] // Fertility and sterility. – 2010. – Vol. 94 – № 1. – P. 343–349.

12. Challenges in the development of novel therapeutic strategies for treatment of endometriosis / Vanhie A. [et al.] // Expert opinion on therapeutic targets. – 2016. – Vol. 20 – № 5. – P. 593–600.

13. Expression of adhesion, attachment and invasion markers in eutopic and ectopic endometrium: a link to the aetiology of endometriosis / Sundqvist J. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2012. – Vol. 27 – № 9. – P. 2737–2746.

14. Matsuzaki S. Analysis of matrix metalloproteinase-7 expression in eutopic and ectopic endometrium samples from patients with different forms of endometriosis / Matsuzaki S., Maleysson E., Darcha C. // Human reproduction (Oxford, England). – 2010. – Vol. 25 – № 3. – P. 742–750.

15. Баскаков В.П. Эндометриоидная болезнь / В.П. Баскаков, Ю.В. Цвелев, Е.Ф. Кира – СПб.: Н-Л, 2002. – 452 с.

16. Глубокий инфильтративный эндометриоз: послеоперационные рецидивы и возможные пути их профилактики / Чернуха Г.Е. [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – Vol. 8. – P. 39–46.

17. The direct and indirect costs associated with endometriosis: a systematic literature review / Soliman A.M. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2016. – Vol. 31 – № 4. – P. 712–722.

18. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors / Missmer S.A. [et al.] // American journal of epidemiology. – 2004. – Vol. 160 – № 8. – P. 784–796.

19. The significant effect of endometriosis on physical, mental and social wellbeing: results from an international cross-sectional survey / Graaff A.A. De [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2013. – Vol. 28 – № 10. – P. 2677–2685.

20. Pritts E.A. An evidence-based evaluation of endometriosis-associated infertility / Pritts E.A., Taylor R.N. // Endocrinology and metabolism clinics of North America. – 2003. – Vol. 32 – № 3. – P. 653–667.

21. Стрижакова М.А. Дифференцированный подход к лечению больных с эндометриоидными кистами яичников / Стрижакова М.А., Давыдов А.И. // Врач. – 2008. – № 2. – С. 5–8.

22. Высокие хирургические энергии в оперативной гинекологии / Давыдов А.И. [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2003. – № 5. – С. 75–85.

23. Давыдов А.И. Возможности и перспективы применения плазменной хирургии нового поколения при операциях на яичниках / Давыдов А.И., Чабан О.В. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2012. – № 2. – С. 51–57.

24. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries / Nnoaham K.E. [et al.] // Fertility and sterility. – 2011. – Vol. 96 – № 2. – P. 366–373.e8.

25. Шестакова И.Г. Эндометриоз: новый консенсус — новые решения. Глобальный консенсус по ведению больных эндометриозом как

первый шаг к созданию отраслевых стандартов. Информационный бюллетень / И. Г. Шестакова, И. Д. Ипастова – М.: Редакция журнала Status Praesens, 2014. – 16 с.

26. Berker B. Problems with the diagnosis of endometriosis / Berker B., Seval M. // Women's health (London, England). – 2015. – Vol. 11 – № 5. – P. 597–601.

27. Menakaya U.A. Capacity building in endometriosis ultrasound: are we there yet? / Menakaya U.A. // Australasian journal of ultrasound in medicine. – 2015. – Vol. 18 – № 4. – P. 129–131.

28. Ультразвуковая диагностика эндометриоза. Варианты изображения эндометриоидных кист яичников / Демидов В.Н. [и др.] // Ультразвуковая диагностика. – 1996. – № 2. – С. 17–21.

29. Beaty S.D. Bladder Endometriosis: Ultrasound and MRI Findings / Beaty S.D., Silva A.C., Petris G. De // Radiology case reports. – 2006. – Vol. 1 – № 3. – P. 92–95.

30. Combination of the non-invasive tests for the diagnosis of endometriosis [Electronic resource] / Nisenblat V. [et al.] // The Cochrane database of systematic reviews. – 2016. – Vol. 7. – CD012281.

31. Urinary biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis [Electronic resource] / Liu E. [et al.] // The Cochrane database of systematic reviews. – 2015. – № 12. – CD012019.

32. Blood biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis [Electronic resource] / Nisenblat V. [et al.] // The Cochrane database of systematic reviews. – 2016. – № 5. – CD012179.

33. Lebovic D.I. Immunobiology of endometriosis / Lebovic D.I., Mueller M.D., Taylor R.N. // Fertility and sterility. – 2001. – Vol. 75 – № 1. – P. 1–10.

34. Koninckx P.R. Implantation versus infiltration: the Sampson versus the endometriotic disease theory / Koninckx P.R., Barlow D., Kennedy S. //

Gynecologic and obstetric investigation. – 1999. – Vol. 47 – Suppl 1. – P. 3- 9; discussion 9-10.

35. Sampson J.A. Peritoneal endometriosis due to menstrual dessemination of endometrial tissue into the pelvic cavity / Sampson J.A. // In. Am. J. Obstet. Gynecol. – 1927. – Vol. 14 – P. 422–469.

36. Адамян Л.В. Эндометриозы, руководство для врачей / Л. В. Адамян / под ред. Л.В. Адамян, В.И. Кулаков. – М.: Медицина, 1998. – 320 с.

37. Basal and stimulated secretion of cytokines by peritoneal macrophages in women with endometriosis / Rana N. [et al.] // Fertility and sterility. – 1996. – Vol. 65 – № 5. – P. 925–930.

38. Активность овариальной аромтазы при эндометриозе / Денисова В.М. [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – Vol. 63 – № 2. – P. 17–22.

39. Ярмолинская М.И. Роль матриксных металлопротеиназ в патогенезе генитального эндометриоза / Ярмолинская М.И., Молотков А.С., Денисова В.М. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т. 61 – № 2. – P. 92–100.

40. Expression of the gamma 2 chain of laminin-332 in eutopic and ectopic endometrium of patients with endometriosis / Locci R. [et al.] // Reproductive biology and endocrinology: RB&E. – 2013. – Vol. 11 – P. 94.

41. Laschke M.W. In vitro and in vivo approaches to study angiogenesis in the pathophysiology and therapy of endometriosis / Laschke M.W., Menger M.D. // Human reproduction update. – Vol. 13 – № 4. – P. 331–342.

42. Vascular endothelial growth factor C is increased in endometrium and promotes endothelial functions, vascular permeability and angiogenesis and growth of endometriosis / Xu H. [et al.] // Angiogenesis. – 2013. – Vol. 16 – № 3. – P. 541–551.

43. HOXA-11 mediated dysregulation of matrix remodeling during implantation window in women with endometriosis / Jana S.K. [et al.] // Journal of assisted reproduction and genetics. – 2013. – Vol. 30 – № 11. – P. 1505–1512.

44. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMP-1) and transforming growth factor-β2 (TGF-β2) expression in eutopic endometrium of women with peritoneal endometriosis / Szymanowski K. [et al.] // Annals of agricultural and environmental medicine: AAEM. – 2016. – Vol. 23 – № 4. – P. 649–653.

45. Effect of matrix metalloproteinase promoter polymorphisms on endometriosis and adenomyosis risk: evidence from a meta-analysis / Ye H. [et al.] // Journal of genetics. – 2016. – Vol. 95 – № 3. – P. 611–619.

46. Guay S. Stable inhibition of interleukin 1 receptor type II in Ishikawa cells augments secretion of matrix metalloproteinases: possible role in endometriosis pathophysiology / Guay S., Akoum A. // Reproduction (Cambridge, England). – 2007. – Vol. 134 – № 3. – P. 525–534.

47. Matrix metalloproteinase-3 mRNA: a promising peripheral blood marker for diagnosis of endometriosis / Sanctis P. De [et al.] // Gynecologic and obstetric investigation. – 2011. – Vol. 71 – № 2. – P. 118–123.

48. Matrix metalloproteinases are elevated in the urine of patients with endometriosis / Becker C.M. [et al.] // Fertility and sterility. – 2010. – Vol. 94 – № 6. – P. 2343–2346.

49. Cancer-related inflammation / Mantovani A. [et al.] // Nature. – 2008. – Vol. 454 – № 7203. – P. 436–444.

50. Бурлев В.А. Роль брюшины в патогенезе наружно-генитального эндометриоза / Бурлев В.А., Лец Н.И. // Проблемы репродукции. – 2001. – № 1. – P. 24–30.

51. Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress / Augoulea A. [et al.] // Archives of gynecology and obstetrics. – 2012. – Vol. 286 – № 1. – P. 99–103.

52. Enhanced inflammatory activity of endometriotic lesions from the rectovaginal septum / Bertschi D. [et al.] // Mediators of inflammation. – 2013. – Vol. 2013 – P. 450950.

53. Mechanisms of excessive estrogen formation in endometriosis / Bulun S.E. [et al.] // Journal of reproductive immunology. – Vol. 55 – № 1–2. – P. 21–33.

54. Eisenberg V.H. Is there an association between autoimmunity and endometriosis? / Eisenberg V.H., Zolti M., Soriano D. // Autoimmunity reviews. – 2012. – Vol. 11 – № 11. – P. 806–814.

55. Estrogen metabolizing enzymes in endometrium and endometriosis / Dassen H. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2007. – Vol. 22 – № 12. – P. 3148–3158.

56. Expression analysis of the genes involved in estradiol and progesterone action in human ovarian endometriosis / Smuc T. [et al.] // Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology. – 2007. – Vol. 23 – № 2. – P. 105–111.

57. Altered gene expression profile in vaginal polypoid endometriosis resembles peritoneal endometriosis and is consistent with increased local estrogen production / Syrcle S.M. [et al.] // Gynecologic and obstetric investigation. – 2011. – Vol. 71 – № 2. – P. 77–86.

58. Inhibition of type 1 17β-hydroxysteroid dehydrogenase impairs the synthesis of 17β-estradiol in endometriosis lesions / Delvoux B. [et al.] // The Journal of clinical endocrinology and metabolism. – 2014. – Vol. 99 – № 1. – P. 276–284.

59. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells / Noble L.S. // The Journal of clinical endocrinology and metabolism. – 1997. – Vol. 82 – № 2. – P. 600–606.

60. Promoter methylation regulates estrogen receptor 2 in human endometrium and endometriosis / Xue Q. // Biology of reproduction. – 2007. – Vol. 77 – № 4. – P. 681–687.

61. Steroidogenic factor-1 and endometriosis / Bulun S.E. [et al.] // Molecular and cellular endocrinology. – 2009. – Vol. 300 – № 1–2. – P. 104–108.

62. Hypermethylation of HOXA10 gene in mid-luteal endometrium from women with ovarian endometriomas / Fambrini M. [et al.] // Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica. – 2013. – Vol. 92 – № 11. – P. 1331–1334.

63. Lu Z. Global analysis of genes regulated by HOXA10 in decidualization reveals a role in cell proliferation / Lu Z., Hardt J., Kim J.J. // Molecular human reproduction. – 2008. – Vol. 14 – № 6. – P. 357–366.

64. Age and ovarian reserve are distinct predictive factors of cycle outcome in low responders / Galey-Fontaine J. [et al.] // Reproductive biomedicine online. – 2005. – Vol. 10 – № 1. – P. 94–99.

65. Ethnicity as a determinant of ovarian reserve: differences in ovarian aging between Spanish and Indian women / Iglesias C. [et al.] // Fertility and sterility. – 2014. – Vol. 102 – № 1. – P. 244–249.

66. Effect of ethnicity on live birth rates after in vitro fertilisation or intracytoplasmic sperm injection treatment / Jayaprakasan K. [et al.] // BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology. – 2014. – Vol. 121 – № 3. – P. 300–306.

67. Race/ethnic disparities in reproductive age: an examination of ovarian reserve estimates across four race/ethnic groups of healthy, regularly cycling women / Bleil M.E. [et al.] // Fertility and sterility. – 2014. – Vol. 101 – № 1. – P. 199–207.

68. The effect of tuberculosis on ovarian reserve among women undergoing IVF in India / Malhotra N. [et al.] // International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics. – 2012. – Vol. 117 – № 1. – P. 40–44.

69. Chemotherapy: Impact on Anti-Müllerian Hormone Levels in Breast Carcinoma / Bala J. [et al.] // Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. – 2016. – Vol. 10 – № 2. – P. 19-21.

70. Obesity adversely affects serum anti-müllerian hormone (AMH) levels in Caucasian women / Moy V. [et al.] // Journal of assisted reproduction and genetics. – 2015. – Vol. 32 – № 9. – P. 1305–1311.

71. The effect of cigarette smoking, alcohol consumption and fruit and vegetable consumption on IVF outcomes: a review and presentation of original data / Firns S. [et al.] // Reproductive biology and endocrinology: RB&E. – 2015. – Vol. 13. – P. 134.

72. Combined and interactive effects of global climate change and toxicants on populations and communities / Moe S.J. [et al.] // Environmental toxicology and chemistry. – 2013. – Vol. 32 – № 1. – P. 49–61.

73. Wong E.W.P. Impacts of environmental toxicants on male reproductive dysfunction / Wong E.W.P., Cheng C.Y. // Trends in pharmacological sciences. – 2011. – Vol. 32 – № 5. – P. 290–299.

74. Giudice L.C. Clinical practice. Endometriosis / Giudice L.C. // The New England journal of medicine. – 2010. – Vol. 362 – № 25. – P. 2389–2398.

75. Endometriosis and infertility / Donnez J. [et al.] // Panminerva medica. – 2016. – Vol. 58 – № 2. – P. 143–150.

76. Risks of adverse pregnancy outcome in endometriosis / Brosens I. [et al.] // Fertility and sterility. – 2012. – Vol. 98 – № 1. – P. 30–35.

77. Hughesdon P.E. The structure of endometrial cysts of the ovary / Hughesdon P.E. // The Journal of obstetrics and gynaecology of the British Empire. – 1957. – Vol. 64 – № 4. – P. 481–487.

78. The distinguishing cellular and molecular features of the endometriotic ovarian cyst: from pathophysiology to the potential endometrioma-mediated damage to the ovary / Sanchez A.M. [et al.] // Human Reproduction Update. – 2014. – Vol. 20 – № 2. – P. 217–230.

79. Matsuzaki S. Oxidative stress status in normal ovarian cortex surrounding ovarian endometriosis / Matsuzaki S., Schubert B. // Fertility and sterility. – 2010. – Vol. 93 – № 7. – P. 2431–2432.

80. Thrombospondin-1 regulates blood flow via CD47 receptor-mediated activation of NADPH oxidase 1 / Csányi G. [et al.] // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2012. – Vol. 32 – № 12. – P. 2966–2973.

81. Short-term transplantation of isolated human ovarian follicles and cortical tissue into nude mice / Dolmans M.-M. [et al.] // Reproduction (Cambridge, England). – 2007. – Vol. 134 – № 2. – P. 253–262.

82. Endometriomas as a possible cause of reduced ovarian reserve in women with endometriosis / Kitajima M. [et al.] // Fertility and sterility. – 2011. – Vol. 96 – № 3. – P. 685–691.

83. Адамян Л.В. Фолликулогенез яичников женщин с некоторыми формами эндометриоза / Адамян Л.В., Курило Л.Ф., Шуляк И.Ю. // Проблемы репродукции. – 2009. – Т. 15 – № 1. – С. 78–85.

84. Enhanced follicular recruitment and atresia in cortex derived from ovaries with endometriomas / Kitajima M. [et al.] // Fertility and sterility. – 2014. – Vol. 101 – № 4. – P. 1031–1037.

85. Адамян Л.В. Состояние ооцит- фолликулярной системы яичников пациентов с эндометриоидными кистами яичников / Адамян Л.В., Курило

Л.Ф., Шуляк. И.Ю. // Проблемы репродукции (специальный выпуск). Третий международный конгресс по репродуктивной медицине. – 2009. – С. 223.

86. Bulun S.E. Ovarian endometriosis: the nemesis of eggs / Bulun S.E. // Fertility and sterility. – 2014. – Vol. 101 – № 4. – P. 938–939.

87. Selective inhibition of prostaglandin E2 receptors EP2 and EP4 inhibits adhesion of human endometriotic epithelial and stromal cells through suppression of integrin-mediated mechanisms / Lee J. [et al.] // Biology of reproduction. – 2013. – Vol. 88 – № 3. – P. 77.

88. The contribution of subtle oocyte or sperm dysfunction affecting fertilization in endometriosis-associated or unexplained infertility: a controlled comparison with tubal infertility and use of donor spermatozoa / Hull M.G. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 1998. – Vol. 13 – № 7. – P. 1825–1830.

89. The pathophysiology of endometriosis-associated infertility: follicular environment and embryo quality / Pellicer A. [et al.] // Journal of reproduction and fertility. Supplement. – 2000. – Vol. 55. – P. 109–119.

90. Фолликулогенез при некоторых формах эндометриоза / Адамян Л.В. [et al.] // Проблемы репродукции. – 2009. – № 4. – С. 78–85.

91. The effect of surgery for endometrioma on ovarian reserve evaluated by antral follicle count: a systematic review and meta-analysis / Muzii L. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2014. – Vol. 29 – № 10. – P. 2190–2198.

92. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts / van Disseldorp J. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2010. – Vol. 25 – № 1. – P. 221–227.

93. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: A committee opinion / Pfeifer S. [et al.] // Fertility and Sterility. – 2015. – Vol. 103 – № 3. – P. e9–e17.

94. Anti-Müllerian hormone and assessment of ovarian reserve after ovarian toxic treatment: a systematic narrative review / Iwase A. [et al.] // Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.). – 2015. – Vol. 22 – № 5. – P. 519–526.

95. Dynamics of the ovarian reserve and impact of genetic and epidemiological factors on age of menopause / Pelosi E. [et al.] // Biology of reproduction. – 2015. – Vol. 92 – № 5. – P. 130.

96. Aging of oocyte, ovary, and human reproduction / Ottolenghi C. [et al.] // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2004. – Vol. 1034. – P. 117–131.

97. Боярский К.Ю. Факторы определяющие овариальный резерв / Боярский К.Ю. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – № 2. – С. 65–71.

98. Назаренко Т.А. Оценка овариального резерва у женщин репродуктивного возраста и его значение в прогнозировании успеха лечения бесплодия / Назаренко Т.А., Волков Н.И., Мишиева Н.Г. // Журнал российского общества акушеров-гинекологов. – 2005. – № 1. – С. 36–39.

99. Александрова Н.В. Современные подходы к оценке овариального резерва у женщин с преждевременной недостаточностью яичников / Александрова Н.В., Марченко Л.А. // Проблемы репродукции. – 2007. – № 2. – С. 22–29.

100. Baker S.J. The role of intra-ovarian interactions in the regulation of follicle dominance / Baker S.J., Spears N. // Human reproduction update. – Vol. 5 – № 2. – P. 153–165.

101. Removal of unilateral endometriomas is associated with immediate and sustained reduction in ovarian reserve / Urman B. [et al.] // Reproductive biomedicine online. – 2013. – Vol. 27 – № 2. – P. 212–216.

102. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging / de Vet A. [et al.] // Fertility and sterility. – 2002. – Vol. 77 – № 2. – P. 357–362.

103. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3 / Fanchin R. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2003. – Vol. 18 – № 2. – P. 323–327.

104. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study / van Rooij I.A.J. [et al.] // Fertility and sterility. – 2005. – Vol. 83 – № 4. – P. 979–987.

105. ESHRE consensus on the definition of “poor response” to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria / Ferraretti A.P. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2011. – Vol. 26 – № 7. – P. 1616–1624.

106. In women with endometriosis anti-Müllerian hormone levels are decreased only in those with previous endometrioma surgery / Streuli I. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2012. – Vol. 27 – № 11. – P. 3294–3303.

107. Decreased anti-Müllerian hormone and altered ovarian follicular cohort in infertile patients with mild/minimal endometriosis / Lemos N.A. [et al.] // Fertility and sterility. – 2008. – Vol. 89 – № 5. – P. 1064–1068.

108. The impact of endometrioma and laparoscopic cystectomy on serum anti-Müllerian hormone levels / Hwu Y.-M. [et al.] // Reproductive biology and endocrinology: RB&E. – 2011. – Vol. 9. – P. 80.

109. Kim V.N. Small RNAs: classification, biogenesis, and function / Kim V.N. // Molecules and cells. – 2005. – Vol. 19 – № 1. – P. 1–15.

110. microRNAs expression in endometriosis and their relation to angiogenic factors / Ramón L.A. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2011. – Vol. 26 – № 5. – P. 1082–1090.

111. MicroRNA expression profile in endometriosis: its relation to angiogenesis and fibrinolytic factors / Braza-Boïls A. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2014. – Vol. 29 – № 5. – P. 978–988.

112. Functional microRNA involved in endometriosis / Hawkins S.M. [et al.] // Molecular endocrinology (Baltimore, Md.). – 2011. – Vol. 25 – № 5. – P. 821–832.

113. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells / Kosaka N. [et al.] // The Journal of biological chemistry. – 2010. – Vol. 285 – № 23. – P. 17442–17452.

114. Differentially expressed plasma microRNAs in premature ovarian failure patients and the potential regulatory function of mir-23a in granulosa cell apoptosis / Yang X. [et al.] // Reproduction (Cambridge, England). – 2012. – Vol. 144 – № 2. – P. 235–244.

115. Laparoscopic management of endometriomas using a combined technique of excisional (cystectomy) and ablative surgery / Donnez J. [et al.] // Fertility and sterility. – 2010. – Vol. 94 – № 1. – P. 28–32.

116. Pathophysiology proposed as the basis for modern management of the ovarian endometrioma / Brosens I. [et al.] // Reproductive biomedicine online. – 2014. – Vol. 28 – № 2. – P. 232–238.

117. Brown J. Endometriosis: an overview of Cochrane Reviews [Electronic resource] / Brown J., Farquhar C. // The Cochrane database of systematic reviews. – 2014. – № 3. – CD009590.

118. Ovarian surgery for bilateral endometriomas influences age at menopause / Coccia M.E. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2011. – Vol. 26 – № 11. – P. 3000–3007.

119. Analysis of late-onset ovarian insufficiency after ovarian surgery: retrospective study with 75 patients of post-surgical ovarian insufficiency / Takae S. [et al.] // PloS one. – 2014. – Vol. 9 – № 5. – e98174.

120. Follicular loss in endoscopic surgery for ovarian endometriosis: quantitative and qualitative observations / Romualdi D. [et al.] // Fertility and sterility. – 2011. – Vol. 96 – № 2. – P. 374–378.

121. Changes in serum anti-Müllerian hormone levels may predict damage to residual normal ovarian tissue after laparoscopic surgery for women with ovarian endometrioma / Kitajima M. [et al.] // Fertility and sterility. – 2011. – Vol. 95 – № 8. – P. 2589–2591.

122. Surgical excision of endometriomas and ovarian reserve: a systematic review on serum antimüllerian hormone level modifications / Somigliana E. [et al.] // Fertility and sterility. – 2012. – Vol. 98 – № 6. – P. 1531–1538.

123. Johnson N.P. Consensus on current management of endometriosis / Johnson N.P., Hummelshoj L., World Endometriosis Society Montpellier Consortium // Human reproduction (Oxford, England). – 2013. – Vol. 28 – № 6. – P. 1552–1568.

124. Давыдов А.И. Оценка овариального резерва после эндохирургических вмешательств на яичниках с использованием высоких энергий / Давыдов А.И., Мусаев Р.Д. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2011. – Т. 10 – № 3. – С. 56–63.

125. Antimullerian hormone level and endometrioma ablation using plasma energy / Roman H. [et al.] // JSLS: Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons. – Vol. 18 – № 3.

126. Lee K.E. Immunohistochemical Assessment of O(6)-Methylguanine-DNA Methyltransferase (MGMT) and Its Relationship with p53 Expression in Endometrial Cancers / Lee K.E. // Journal of cancer prevention. – 2013. – Vol. 18 – № 4. – P. 351–354.

127. MGMT in colorectal cancer: a promising component of personalized treatment / Zhang L. [et al.] // Tumour biology: the journal of the International

Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 37 – № 8. – P. 11443–11456.

128. Assessment of Quantitative and Allelic MGMT Methylation Patterns as a Prognostic Marker in Glioblastoma / Kristensen L.S. [et al.] // Journal of neuropathology and experimental neurology. – 2016. – Vol. 75 – № 3. – P. 246–255.

129. High frequency of RASSF1A and RARb2 gene promoter methylation in morphologically normal endometrium adjacent to endometrioid adenocarcinoma / Arafa M. [et al.] // Histopathology. – 2008. – Vol. 53 – № 5. – P. 525–532.

130. The high frequency of de novo promoter methylation in synchronous primary endometrial and ovarian carcinomas / Furlan D. [et al.] // Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research. – 2006. – Vol. 12 – № 11 Pt 1. – P. 3329–3336.

131. High temperature requirement A1, transforming growth factor beta1, phosphoSmad2 and Ki67 in eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis / Goteri G. [et al.] // European journal of histochemistry: EJH. – 2015. – Vol. 59 – № 4. – P. 2570.

132. The assessment of immunohistochemical profile of endometriosis implants, a practical method to appreciate the aggressiveness and recurrence risk of endometriosis / Brătilă E. [et al.] // Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie. – 2015. – Vol. 56 – № 4. – P. 1301–1307.

133. Anwar R. Expression of Ki-67 has Correlation with the Degree and Size of Endometriosis Cysts / Anwar R., Alif M., Pribadi A. // Journal of Medicine and Health. – 2015. – Vol. 1 – № 1. – P. 20–27.

134. Immunohistochemical detection of steroid receptor cofactors in ovarian endometriosis: involvement of down-regulated SRC-1 expression in the limited growth activity of the endometriotic epithelium / Suzuki A. [et al.] //

Virchows Archiv: an international journal of pathology. – 2010. – Vol. 456 – № 4. – P. 433–441.

135. Expression of CD44s, vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase-2 and Ki-67 in peritoneal, rectovaginal and ovarian endometriosis / Kim H.O. [et al.] // The Journal of reproductive medicine. – 2007. – Vol. 52 – № 3. – P. 207–213.

136. Expression patterns of Aurora A and B kinases, Ki-67 and the estrogen and progesterone receptors determined using an endometriosis tissue microarray model / Calcagno A. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2011. – Vol. 26 – № 10. – P. 2731–2741.

137. Приказ Минздрава России №107н от 30 августа 2012 г “О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению”.

138. Evaluation of factors predicting diminished ovarian reserve before and after laparoscopic cystectomy for ovarian endometriomas: a prospective cohort study / Ozaki R. [et al.] // Journal of Ovarian Research. – 2016. – Vol. 9 – № 1. – P. 37.

139. Seyhan A. The Impact of Endometriosis and Its Treatment on Ovarian Reserve / Seyhan A., Ata B., Uncu G. // Seminars in reproductive medicine. – 2015. – Vol. 33 – № 6. – P. 422–428.

140. Seifer D.B. Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States / Seifer D.B., Baker V.L., Leader B. // Fertility and sterility. – 2011. – Vol. 95 – № 2. – P. 747–750.

141. Prospective assessment of the impact of endometriomas and their removal on ovarian reserve and determinants of the rate of decline in ovarian reserve / Uncu G. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2013. – Vol. 28 – № 8. – P. 2140–2145.

142. ESHRE guideline: management of women with endometriosis / Dunselman G.A.J. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2014. – Vol. 29 – № 3. – P. 400–412.

143. Hachisuga T. Histopathological analysis of laparoscopically treated ovarian endometriotic cysts with special reference to loss of follicles / Hachisuga T., Kawarabayashi T. // Human reproduction (Oxford, England). – 2002. – Vol. 17 – № 2. – P. 432–435.

144. Laparoscopic stripping of endometriomas: a randomized trial on different surgical techniques. Part II: pathological results / Muzii L. [et al.] // Human reproduction (Oxford, England). – 2005. – Vol. 20 – № 7. – P. 1987–1992.

145. Excision of endometriotic cyst wall may cause loss of functional ovarian tissue / Dilek U. [et al.] // Fertility and sterility. – 2006. – Vol. 85 – № 3. – P. 758–760.

146. Endometriosis and infertility / Bulletti C. [et al.] // Journal of assisted reproduction and genetics. – 2010. – Vol. 27 – № 8. – P. 441–447.

147. Excisional surgery versus ablative surgery for ovarian endometriomata [Electronic resource] / Hart R.J. [et al.] // The Cochrane database of systematic reviews. – 2008. – № 2. – CD004992.

148. Laparoscopic stripping of endometriomas negatively affects ovarian follicular reserve even if performed by experienced surgeons / Biacchiardi C.P. [et al.] // Reproductive biomedicine online. – 2011. – Vol. 23 – № 6. – P. 740–746.

149. Mostaejeran F. Evaluation of antimullerian hormone levels before and after laparoscopic management of endometriosis / Mostaejeran F., Hamoush Z., Rouholamin S. // Advanced biomedical research. – 2015. – Vol. 4. – P. 182.

150. Ovarian cortex surrounding benign neoplasms: a histologic study / Maneschi F. [et al.] // American journal of obstetrics and gynecology. – 1993. – Vol. 169 – № 2 Pt 1. – P. 388–393.

151. Greenwald G.S. Effect of an anti-PMS serum on ovulation and estrogen secretion in the PMS-treated hamster / Greenwald G.S. // Biology of reproduction. – 1973. – Vol. 9 – № 4. – P. 437–446.

152. Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries / Bukovsky A. [et al.] // Reproductive biology and endocrinology: RB&E. – 2004. – Vol. 2. – P. 20.

153. Bukovsky A. Oogenesis in cultures derived from adult human ovaries / Bukovsky A., Svetlikova M., Caudle M.R. // Reproductive biology and endocrinology: RB&E. – 2005. – Vol. 3. – P. 17.

154. Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood / Johnson J. [et al.] // Cell. – 2005. – Vol. 122 – № 2. – P. 303–315.

155. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease / Kitawaki J. [et al.] // The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. – 2002. – Vol. 83 – № 1–5. – P. 149–155.

156. Steroid receptor levels and histology of endometriosis and adenomyosis / Tamaya T. [et al.] // Fertility and sterility. – 1979. – Vol. 31 – № 4. – P. 396–400.

157. Estrogen and progestin receptors in endometriosis lesions: comparison with endometrial tissue / Jänne O. [et al.] // American journal of obstetrics and gynecology. – 1981. – Vol. 141 – № 5. – P. 562–566.

158. Immunocytochemical localization of estrogen receptors in the macaque reproductive tract with monoclonal antiestrophilins / McClellan M.C. [et al.] // Endocrinology. – 1984. – Vol. 114 – № 6. – P. 2002–2014.

159. Biochemical and immunohistochemical analyses of estrogen and progesterone receptors in the rhesus monkey uterus during the proliferative and secretory phases of artificial menstrual cycles / Okulicz W.C. [et al.] // Fertility and sterility. – 1990. – Vol. 53 – № 5. – P. 913–920.

160. Immunohistochemical analysis of estrogen and progesterone receptors in endometrium and peritoneal endometriosis: a new quantitative method / Nisolle M. [et al.] // Fertility and sterility. – 1994. – Vol. 62 – № 4. – P. 751–759.

161. Immunohistochemical analysis of estrogen and progesterone receptors in endometriosis: comparison with normal endometrium during the menstrual cycle and the effect of medical therapy / Lessey B.A. [et al.] // Fertility and sterility. – 1989. – Vol. 51 – № 3. – P. 409–415.

162. Bergqvist A. Immunohistochemical analysis of oestrogen and progesterone receptors in endometriotic tissue and endometrium / Bergqvist A., Ljungberg O., Skoog L. // Human reproduction (Oxford, England). – 1993. – Vol. 8 – № 11. – P. 1915–1922.

163. Nisolle M. Immunohistochemical analysis of proliferative activity and steroid receptor expression in peritoneal and ovarian endometriosis / Nisolle M., Casanas-Roux F., Donnez J. // Fertility and sterility. – 1997. – Vol. 68 – № 5. – P. 912–919.

164. Khan M.S. Ki-67, oestrogen receptor, and progesterone receptor proteins in the human rete ovarii and in endometriosis / Khan M.S., Dodson A.R., Heatley M.K. // Journal of clinical pathology. – 1999. – Vol. 52 – № 7. – P. 517–520.

165. Immunopathogenesis of pelvic endometriosis: role of hepatocyte growth factor, macrophages and ovarian steroids / Khan K.N. [et al.] // American journal of reproductive immunology (New York, N.Y.: 1989). – 2008. – Vol. 60 – № 5. – P. 383–404.

166. Сонова М.М. Клинико-морфологические, молекулярно-биологические и лечебные факторы генитального эндометриоза: автореф. дис. … докт. мед. наук: 14.00.01 / Сонова Марина. – М., 2009. – 52 с.

167. Alif M. Ki-67 Expression is Correlated with Cyst Size and Stage of Endometriosis / Alif M., Anwar R., Pribadi A. // Indonesian Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2013. – Vol. 1 – № 3. – P. 124-128.

168. The number of proliferating cell nuclear antigen positive cells in endometriotic lesions differs from that in the endometrium. Analysis of PCNA positive cells during the menstrual cycle and in post-menopause / Li S.F. [et al.] // Virchows Archiv. A, Pathological anatomy and histopathology. – 1993. – Vol. 423 – № 4. – P. 257–263.

169. Comparison of Ki-67 proliferative index between eutopic and ectopic endometrium: a case control study / Kahyaoglu I. [et al.] // Taiwanese journal of obstetrics & gynecology. – 2012. – Vol. 51 – № 3. – P. 393–396.

170. Tracing cellular and molecular mechanisms involved in endometriosis / Starzinski-Powitz A. [et al.] // Human reproduction update – Vol. 4 – № 5. – P. 724–729.

171. Proliferative activity of postmenopausal endometriosis: a histopathologic and immunocytochemical study / Toki T. [et al.] // International journal of gynecological pathology: official journal of the International Society of Gynecological Pathologists. – 1996. – Vol. 15 – № 1. – P. 45–53.

172. Vita V.T. De Cancer: Principles & Practice of Oncology / Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. 7th ed. – P. 408–409.

173. DNA methylation of channel-related genes in cancers / Ouadid-Ahidouch H. [et al.] // Biochimica et biophysica acta. – 2015. – Vol. 1848 – № 10 Pt B. – P. 2621–2628.

174. Activity of the DNA repair protein O6-methylguanine-DNA methyltransferase in human tumor and corresponding normal tissue / Preuss I. [et al.] // Cancer detection and prevention. – 1996. – Vol. 20 – № 2. – P. 130–6.

175. Prognostic significance of O6-methylguanine-DNA methyltransferase determined by promoter hypermethylation and immunohistochemical expression in

anaplastic gliomas / Brell M. [et al.] // Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research. – 2005. – Vol. 11 – № 14. – P. 5167–5174.

176. Prognostic significance of the immunohistochemical expression of O6-methylguanine-DNA methyltransferase, P-glycoprotein, and multidrug resistance protein-1 in glioblastomas / Nakagawa T. [et al.] // Neuropathology: official journal of the Japanese Society of Neuropathology. – 2009. – Vol. 29 – № 4. – P. 379–388.

177. Silencing of MGMT expression by promoter hypermethylation in the metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence of Barrett's esophagus / Kuester D. [et al.] // Cancer letters. – 2009. – Vol. 275 – № 1. – P. 117–126.

178. Absence of MGMT promoter methylation in endometrial cancer / Rimel B.J. // Gynecologic oncology. – 2009. – Vol. 112 – № 1. – P. 224–228.

179. Нарушение экспрессии белков MGMT и эзрина при гиперплазии эндометрия, эндометриальной интраэпителиальной неоплазии и высокодифференцированной эндометриоидной аденокарциноме / Коган Е.А. [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – Т. 2. – С. 44–48.