

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

*На правах рукописи*

**Пшеничниук Екатерина Юрьевна**

**ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МАЛОИНВАЗИВНОЙ  
ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ НАРУЖНОГО  
ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА**

14.01.01 – акушерство и гинекология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
академик РАН, доктор медицинских наук,  
профессор Адамян Л.В.  
доктор биологических наук,  
профессор РАН Трофимов Д.Ю.

Москва – 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О НАРУЖНОМ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ (обзор литературы) .....	14
1.1 Распространенность. Классификация. Клинические проявления. Диагностика.....	14
1.2 Современные представления о патогенезе эндометриоза. Молекулярно- биологические особенности эутопического и эктопического эндометрия женщин с эндометриозом.....	17
1.3 Современные представления о лечении эндометриоза .....	45
1.4 Факторы риска рецидивирования наружного генитального эндометриоза.....	52
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	59
2.1 Дизайн исследования.....	61
2.2 Критерии включения и исключения.....	65
2.3 Методы исследования.....	66
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	80
3.1 Клинико-anamнестическая характеристика исследуемых пациенток.....	80
3.2 Отдаленные результаты хирургического лечения, частота и клинические факторы риска рецидивирования эндометриоидных кист яичников.....	91
3.3 Генетическая предрасположенность к наружному генитальному эндометриозу.....	107
3.4 Частота и структура патологических изменений в эутопическом эндометрии пациенток с наружным генитальным эндометриозом.....	111
3.5 Исследование транскриптома эутопического эндометрия пациенток с наружным генитальным эндометриозом при помощи микроматриц (mRNA microarray analysis).....	116
3.6 Анализ уровня мРНК кандидатных генов в эутопическом эндометрии	

пациенток с наружным генитальным эндометриозом.....	122
3.7 Иммуногистохимическое исследование эутопического эндометрия и капсулы эндометриоидных кист яичников.....	128
3.7.1 Результаты иммуногистохимического исследования эутопического эндометрия.....	129
3.7.2 Результаты иммуногистохимического исследования капсулы эндометриоидных кист яичников.....	134
3.7.3 Иммуногистохимические особенности эутопического эндометрия и капсулы эндометриоидных кист яичников.....	142
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	143
ВЫВОДЫ.....	172
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	174
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	177
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	180

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Эндометриоз является одним из наиболее распространенных гинекологических заболеваний женщин репродуктивного возраста. В структуре гинекологической заболеваемости эндометриоз занимает 3-е место после воспалительных заболеваний и миомы матки, приводя к стойкому болевому синдрому (71-87%) и бесплодию (21-47%). Эндометриоз поражает 10% женщин репродуктивного возраста и 35-50% женщин с тазовой болью и бесплодием [1].

Причины и механизм развития эндометриоза до настоящего времени не известны, основные гипотезы связывают развитие этого заболевания с воздействием различных внешних факторов, а также наличием наследственной предрасположенности или же сочетанием этих причин [133, 281]. Открытыми остаются вопросы этиологии и патогенеза данного заболевания, особенностей клинической картины в зависимости от локализации процесса и тяжести течения заболевания. Отсутствуют данные о сравнительной информативности отдельных методов диагностики и выявления рецидивов, а также эффективности различных методов лечения и реабилитации [1].

В настоящее время существует множество методов диагностики наружного генитального эндометриоза (НГЭ), однако они обладают довольно низкой специфичностью, что позволяет поставить лишь предварительный диагноз, требующий верификации. Единственным методом окончательной диагностики НГЭ на сегодняшний день является инвазивное лапароскопическое исследование с прицельной биопсией подозрительных очагов и их последующим гистологическим исследованием. Такие процедуры являются инвазивными, трудоемкими и дорогостоящими, кроме того временной интервал между первым появлением симптомов и постановкой окончательного диагноза может достигать 8-11 лет [74]. В 50% случаев НГЭ может быстро прогрессировать [74, 110], таким

образом ранняя неинвазивная или малоинвазивная диагностика НГЭ позволит значительно ускорить постановку диагноза, что имеет ключевое значение для профилактики прогрессирования и рецидивирования заболевания, а также сохранения репродуктивного здоровья и повышения качества жизни. При лечении женщин с бесплодием неинвазивный или малоинвазивный тест на НГЭ позволит своевременно выявлять женщин, которым необходимо оперативное лечение, что повысит фертильность и уменьшит проявление болевого синдрома [74, 323].

В настоящее время практически не изучен вопрос о прогнозировании рецидивирования различных фенотипических форм эндометриоза. Биомаркеры в тканевых образцах могут стать надежными предикторами рецидивирования НГЭ и иметь большое практическое значение, так как позволят сразу после оперативного лечения определять пациенток с высоким риском рецидивирования данного заболевания. Разработка эффективных методик прогнозирования рецидивирования НГЭ позволит определить более четкие показания для назначения различных вариантов медикаментозной терапии в послеоперационном периоде. Кроме того, такая стратификация пациенток позволит оптимизировать биобанкирование ооцитов у пациенток с эндометриоидными кистами яичников (ЭКЯ) [268]. Таким образом, определение и идентификация факторов риска рецидивирования НГЭ важны для повышения эффективности послеоперационной терапии и индивидуализации ведения пациенток в послеоперационном периоде [288].

Данные молекулярно-генетических методов позволят улучшить представления о патогенезе НГЭ, а также помогут найти молекулярные маркеры для ранней диагностики НГЭ и прогнозирования его рецидивирования [264].

### **Степень разработанности темы исследования**

В последнее десятилетие идет поиск генов, ассоциированных с эндометриозом. Сравнительный анализ экспрессионных профилей выявил

различия в транскрипционной активности целого ряда генов в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом и женщин без этого заболевания [74, 132, 141, 320]. Однако в силу различий при составлении анализируемых групп пациенток, равно как и использованных для анализа микрочипов, полученные данные весьма противоречивы.

В настоящее время практически не изучен вопрос о прогнозировании рецидивирования различных фенотипических форм эндометриоза. В нескольких исследованиях [241, 242, 247, 255], сосредоточенных на эпидемиологических и интраоперационных данных, изучены факторы риска рецидивирования ЭКЯ, однако полученные результаты неокончательны. Роль молекулярно-генетических маркеров в тканевых образцах в качестве предикторов рецидивирования ЭКЯ оценивалась в единичных исследованиях [82, 172, 175, 268] и пока остается недостаточно изученной.

В настоящее время не разработаны алгоритмы ведения женщин с НГЭ в зависимости от их индивидуальных особенностей, клинико-анатомической и морфологической характеристики эндометриоидных гетеротопий [1].

### **Цель исследования**

Оптимизация тактики обследования и ведения пациенток с наружным генитальным эндометриозом с использованием молекулярно-генетических маркеров для диагностики и прогнозирования его рецидивирования.

### **Задачи исследования**

1. Исследовать отдаленные результаты хирургического лечения, частоту и клинические факторы риска рецидивирования эндометриоидных кист яичников у пациенток репродуктивного возраста.

2. Изучить генетические факторы риска (rs4703908:G>C, rs10859871:A>C, rs10965235:C>A) развития различных форм наружного генитального эндометриоза (эндометриоидные кисты яичников, глубокий инфильтративный эндометриоз и эндометриоз брюшины малого таза).

3. Исследовать частоту и структуру патологических изменений в эутопическом эндометрии пациенток с наружным генитальным эндометриозом.

4. Исследовать транскриптом эутопического эндометрия пациенток с наружным генитальным эндометриозом с помощью микроматриц (mRNA microarray analysis) и определить возможность использования кандидатных генов в качестве биомаркеров для малоинвазивной диагностики с помощью количественной ОТ-ПЦР.

5. Исследовать экспрессию факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF- $\kappa$ B p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенин), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в эутопическом эндометрии и капсуле эндометриоидных кист яичников иммуногистохимическим методом и определить возможность их использования в качестве предикторов рецидивирования эндометриоидных кист яичников.

6. На основании полученных клиничко-эндоскопических, молекулярно-генетических и иммуногистохимических данных оптимизировать тактику обследования и ведения пациенток с наружным генитальным эндометриозом до и после оперативного лечения.

### **Научная новизна**

Определены генетические факторы (генотип CC локуса rs10859871) риска развития НГЭ (ЭКЯ, глубокий инфильтративный эндометриоз и эндометриоз брюшины малого таза). Проведено комплексное патоморфологическое, иммуногистохимическое и молекулярно-генетическое исследование эутопического эндометрия пациенток с НГЭ. На основании транскриптомного

исследования (mRNA microarray analysis) эутопического эндометрия и последующего исследования активности кандидатных генов с помощью количественной ОТ-ПЦР определены биомаркеры (мРНК генов *FOS*, *EGR-1*, *FOSB* и *ZFP36*) для малоинвазивной диагностики НГЭ. На основании изучения клинико-эндоскопических данных и иммуногистохимического исследования капсулы ЭКЯ и эутопического эндометрия определены клинико-эндоскопические (суммарный диаметр ЭКЯ >4,5 см, III-IV стадия распространения эндометриоза и наличие оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе) и иммуногистохимические (PR- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B p65, COX-2 и  $\beta$ -катенин в капсуле ЭКЯ и PR- $\alpha$  и NF- $\kappa$ B p65 в эутопическом эндометрии) предикторы рецидивирования ЭКЯ.

### **Практическая значимость**

Генотипирование по локусу rs10859871, расположенному вблизи гена *VEZT*, позволит выявлять женщин с высокой вероятностью развития НГЭ. Создание и внедрение в клиническую практику диагностических систем на основе количественной ОТ-ПЦР по детекции мРНК генов *FOS*, *EGR-1*, *FOSB* и *ZFP36* в эутопическом эндометрии позволит оптимизировать раннюю диагностику НГЭ. Оценка клинико-эндоскопических факторов риска рецидивирования (суммарный диаметр ЭКЯ >4,5 см, III-IV стадия распространения эндометриоза и наличие оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе) и иммуногистохимическое исследование капсулы ЭКЯ и эутопического эндометрия по выявленным предикторам рецидивирования (PR- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B p65, COX-2 и  $\beta$ -катенин в капсуле ЭКЯ и PR- $\alpha$  и NF- $\kappa$ B p65 в эутопическом эндометрии) позволит сразу после оперативного лечения выявлять пациенток с высоким риском рецидивирования ЭКЯ и оптимально индивидуализировать послеоперационную тактику ведения пациенток с ЭКЯ. На основании полученных клинико-эндоскопических, молекулярно-генетических и иммуногистохимических данных



разработан и предложен алгоритм обследования и ведения пациенток с НГЭ до и после оперативного лечения.

### **Методология и методы исследования**

В соответствии с целью исследования и поставленными задачами обследованы 268 пациенток, находившихся на лечении в гинекологическом отделении отдела оперативной гинекологии и общей хирургии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России с 2015 по 2017 гг. Все исследуемые пациентки разделены на группы: I группа – 188 пациенток с гистологически подтвержденным диагнозом НГЭ; II группа – 80 пациенток без эндометриоза (группа сравнения). Всем пациенткам с НГЭ проведено общеклиническое обследование и оперативное лечение лапароскопическим доступом (одновременно с диагностической целью проводили гистероскопию с биопсией или диагностическим выскабливанием эндометрия) в соответствии с выявленной формой НГЭ. Группу сравнения составили пациентки, прооперированные по поводу спаечного процесса (32,5%, n=26), миомы матки (52,5%, n=42) или неполной внутриматочной перегородки (15,0%, n=12) и у которых по данным УЗИ органов малого таза и лапароскопического исследования не было выявлено эндометриоза, а также не было оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе.

В зависимости от вида получаемой в послеоперационном периоде гормональной терапии (ГТ) пациентки с ЭКЯ (n=118) были разделены на сопоставимые по клинико-anamнестической характеристике группы:

I группа – 61 пациентка, не получавшая ГТ в послеоперационном периоде. Причиной отсутствия ГТ в послеоперационном периоде у большинства пациенток было желание реализовать репродуктивную функцию и планирование беременности;

II группа – 39 пациенток, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев после оперативного лечения;

III группа – 18 пациенток, получавших диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме в течение 12 месяцев после оперативного лечения.

Оценку эффективности проведенного лечения осуществляли у 118 пациенток с ЭКЯ по данным анализа жалоб и репродуктивной функции, гинекологического обследования и УЗИ органов малого таза в течение 1,5 лет после оперативного вмешательства с интервалом в 6 месяцев.

Специальные методы обследования: УЗИ органов малого таза, генотипирование по локусам *ZNF366* (rs4703908:G>C), *VEZT* (rs10859871:A>C) и *CDKN2B-AS* (rs10965235:C>A), транскриптомное исследование (mRNA microarray analysis) эутопического эндометрия и количественная ОТ-ПЦР для определения активности кандидатных генов в эутопическом эндометрии, гистологическое и иммуногистохимическое исследование эутопического эндометрия и капсулы ЭКЯ.

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

1. Факторами риска рецидивирования эндометриоидных кист яичников являются: суммарный диаметр кист >4,5 см, III-IV стадия распространения эндометриоза и наличие оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе. Частота рецидивирования эндометриоидных кист яичников за период наблюдения 1,5 года после оперативного лечения у пациенток, не получавших гормональную терапию, составляет 19,7%, у пациенток, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев, – 17,9% ( $p=0,830$ ) и у пациенток, получавших диеногест в дозе 2 мг в течение 12 месяцев, рецидивирования не наблюдалось ( $p=0,041$ ). Частота наступления беременности в 2,4 раза выше у пациенток, получавших гозерелин после оперативного лечения (61,9%), при

сравнении с пациентками, не получавшими гормональной терапии (25,8%) ( $p=0,0092$ ).

2. Носительство гомозиготного генотипа СС локуса rs10859871, расположенного вблизи гена *VEZT*, ассоциировано с повышением риска развития наружного генитального эндометриоза в 5,6 раз (аутосомно-рецессивная модель наследования).

3. По данным транскриптомного исследования и количественной ОТ-ПЦР в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с наружным генитальным эндометриозом повышена экспрессия генов *FOS*, *EGR-1*, *FOSB* и *ZFP36*. Значимыми молекулярными маркерами наружного генитального эндометриоза в эутопическом эндометрии являются уровни мРНК генов *FOS*  $>1,481$  о.е., *EGR-1*  $>0,192$  о.е., *FOSB*  $>0,013$  о.е. и *ZFP36*  $>0,165$  о.е.

4. Значимыми молекулярными предикторами рецидивирования эндометриоидных кист яичников являются уровни экспрессии PR- $\alpha$   $>20$  баллов, NF- $\kappa$ B p65  $\leq 3$  баллов, COX-2  $\leq 0$  баллов и  $\beta$ -катенина  $>2$  баллов в капсуле эндометриоидной кисты яичника и PR- $\alpha$   $>280$  баллов в секреторную стадию и NF- $\kappa$ B p65  $>4$  баллов в пролиферативную стадию в эутопическом эндометрии.

### **Личный вклад автора**

Автором осуществлено планирование научного исследования: формирование методологической структуры, формулировка целей и задач исследования, анализ медицинской документации, подбор пациенток, сбор биологического материала, обобщение и статистическая обработка полученных данных. Автор лично участвовал во всех этапах ведения пациенток: обследовании, оперативном лечении, послеоперационном ведении и реабилитации. Автор непосредственно участвовал в анализе данных, полученных при морфологическом, иммуногистохимическом и молекулярно-генетическом

исследовании биологического материала. Автор самостоятельно изучал научную литературу по данной тематике, писал и публиковал научные статьи.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

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

### **Апробация работы**

Апробация диссертации была проведена на межклинической конференции (22 августа 2017 года) и заседании апробационной комиссии ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (28 августа 2017 года, протокол № 8).

Результаты исследования и основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на Межрегиональной научно-практической конференции по актуальным вопросам перинатальной медицины и репродуктивного здоровья населения (Россия, Чебоксары, 2016), XXX Юбилейном Международном конгрессе с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Россия, Москва, 2017), XVIII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Россия, Москва, 2017), XII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Россия, Москва, 2018), the 18th World Congress of Gynecological Endocrinology (Italy, Florence, 2018), XXIV Всероссийском конгрессе с международным участием и специализированной выставочной экспозицией (Россия, Москва, 2018) и XXV

Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Россия, Москва, 2018).

### **Внедрение результатов работы в практику**

Полученные научные и практические результаты внедрены в работу гинекологического отделения отдела оперативной гинекологии и общей хирургии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Результаты диссертационной работы используются в материалах лекций и семинаров, на студенческих кружках и практических занятиях по повышению квалификации врачей акушеров-гинекологов.

По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, из которых 8 входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена в традиционной форме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, а также выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка используемой литературы.

Диссертация представлена на 210 страницах машинописного текста. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 40 рисунками. Библиографический указатель включает 325 источников: 27 отечественных и 298 зарубежных.

## **Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О НАРУЖНОМ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ (обзор литературы)**

### **1.1 Распространенность. Классификация. Клинические проявления. Диагностика.**

Эндометриоз – это процесс, при котором за пределами полости матки происходит доброкачественное разрастание ткани, по морфологическим и функциональным свойствам подобной эутопическому эндометрию, и так же, как эутопический эндометрий, отвечающей на циклические изменения яичниковых гормонов [1]. Эти эктопические эндометриозидные очаги обычно локализуются на тазовых органах и брюшине [65, 281]. Изредка эндометриозидные очаги могут быть найдены в других органах и тканях, таких как почки, мочевого пузыря, легкие и головной мозг [281].

Эндометриоз является одним из наиболее распространенных гинекологических заболеваний, поражающих женщин репродуктивного возраста. Эндометриоз поражает 10% женщин репродуктивного возраста и 35-50% женщин с тазовой болью и бесплодием. Это означает, что 176 миллионов женщин во всем мире страдают от симптомов эндометриоза в самый продуктивный период своей жизни. В структуре гинекологической заболеваемости эндометриоз занимает 3-е место после воспалительных заболеваний и миомы матки, приводя к стойкому болевому синдрому (71-87%) и бесплодию (21-47%) [1].

Эндометриоз традиционно подразделяют на генитальный и экстрагенитальный, а генитальный, в свою очередь, на внутренний (эндометриоз тела матки – аденомиоз) и наружный (эндометриоз промежности, влагалища, шейки матки, прямокишечно-маточного углубления, ретроцервикальной области, маточных труб, яичников, брюшины). В последние годы аденомиоз (внутренний эндометриоз) все чаще рассматривают как совершенно особое заболевание, а

некоторые авторы считают, что ретроцервикальный эндометриоз является особой разновидностью заболевания, более схожей с аденомиозом [1].

В течение последних 50 лет разработано более 10 классификаций эндометриоза. Однако ни одна из этих классификаций не признана универсальной [324].

Одной из наиболее широко используемых в мировой практике стала классификация, предложенная в 1979 году Американским обществом фертильности (с 1995 года Американское общество репродуктивной медицины – ASRM) и пересмотренная в 1996 году (Таблица 1). Эта классификация основана на подсчете общей площади и глубины эндометриоидных гетеротопий в баллах: I стадия – минимальный эндометриоз (1–5 баллов); II стадия – легкий эндометриоз (6–15 баллов); III стадия – умеренный эндометриоз (16–40 баллов); IV стадия – тяжелый эндометриоз (более 40 баллов).

Таблица 1.

Пересмотренная в 1996 г. классификация Американского общества репродуктивной медицины (ASRM)

Локализация		Характеристика эндометриоза	Размеры эндометриоидных гетеротопий		
			< 1 см	1 - 3 см	> 3 см
		Оценка в баллах			
Брюшина		Поверхностный	1	2	4
		Глубокий	2	4	6
Яичники	Правый	Поверхностный	1	2	4
		Глубокий	4	16	20
	Левый	Поверхностный	1	2	4
		Глубокий	4	16	20
Облитерация позадматочного пространства		Частичная	4		
		Полная	40		
Спайки			< 1/3 запаяно	1/3 - 2/3 запаяно	>2/3 запаяно
Яичники	Правый	Рыхлые	1	2	4
		Плотные	4	8	16
	Левый	Рыхлые	1	2	4
		Плотные	4	8	16

Маточные трубы	Правая	Рыхлые	1	2	4
		Плотные	4*	8*	16
	Левая	Рыхлые	1	2	4
		Плотные	4*	8*	16

\*полностью запаянный фимбриальный отдел маточной трубы следует оценивать «>16».

Классификация не лишена недостатков, главные из которых – частое несоответствие стадии распространения, определенной путем подсчета баллов, истинной тяжести заболевания и отсутствие должной оценки инфильтративных форм.

В 2005 г. для описания более тяжелых инвазивных форм заболевания в дополнение к классификации ASRM 1996 г. F.Tuttlies и соавт. разработали классификационную систему ENZIAN. Ввиду значительной сложности и частичного совпадения с классификацией ASRM 1996 г., она была пересмотрена в 2010 г. и стала более легкой в исполнении, однако пока не получила широкого распространения [311].

В 2011 г. на Всемирном конгрессе по эндометриозу в Монпелье (Франция) H.R.Tinneberg представил классификацию эндометриоза, согласно которой аденомиоз относится к инфильтративной форме этого заболевания. В основе данной классификации лежит принцип распространения эндометриоза по плоскостям: ректовагинальное пространство и влагалище (компармент А), плоскость крестцово-маточных связок и стенка таза (компармент В), мышечный слой прямой и сигмовидной кишки (компармент С), а также учитывается глубина поражения (до 1 см, 1-3 см, более 3 см) и сторона поражения (правая, левая). В настоящее время эта классификация дискутируется [1].

В 2010 г. также был представлен Индекс фертильности при эндометриозе (EFI), позволяющий вычислить вероятность наступления беременности в естественном цикле у женщин с хирургически подтвержденным эндометриозом [33].

В большинстве случаев эндометриоз диагностируют несвоевременно. Существует множество методов диагностики эндометриоза, однако все они



неспецифичны и позволяют поставить лишь предположительный диагноз, требующий верификации. «Золотым стандартом» в диагностике НГЭ является инвазивное (лапароскопическое) исследование с прицельной биопсией подозрительных очагов и их последующим гистологическим исследованием [1, 3, 7, 10, 16, 17, 54].

В настоящее время не существует патогенетического лечения эндометриоза и его симптомов при помощи медикаментозных и хирургических методик [281]. Медикаментозное лечение основано на подавлении воспалительной реакции, ингибировании циклической деятельности яичников и блокировании эффектов эстрогенов. Хирургическое лечение заключается в удалении определяемых очагов эндометриоза или полном удалении пораженных органов малого таза [140, 281]. Существуют споры относительно наилучшего метода лечения: некоторые авторы предполагают, что хирургическое иссечение способствует рецидивированию эндометриоза, пока другие рассматривают хирургическое иссечение как способ уменьшения риска прогрессирования заболевания [116, 202, 281]. Однако ни медикаментозные, ни хирургические методы лечения не обеспечивают долгосрочное избавление от симптомов заболевания у женщин с эндометриозом. Поэтому улучшение современных знаний о патогенезе эндометриоза лежит в основе поиска новых мишеней для разработки более эффективных терапевтических средств и диагностических методик [5].

## **1.2 Современные представления о патогенезе эндометриоза. Молекулярно-биологические особенности эутопического и эктопического эндометрия женщин с эндометриозом.**

Предложено множество теорий, объясняющих патогенез эндометриоза (Таблица 2): имплантационная (теория ретроградной менструации), метапластическая, гормональная, теория оксидативного стресса и воспаления, иммунологическая, теория супрессии апоптоза и изменения эндометриальной

клеточной гибели, генетическая, теория развития эндометриоидных гетеротопий из стволовых клеток [2, 38, 63, 65, 135, 138, 184, 185, 192, 199, 202, 210, 212, 233, 281, 285]. Однако ни одна из существующих теорий окончательно не подтверждена.

Таблица 2.

## Теории патогенеза эндометриоза

Теория	Механизм
Имплантационная (теория ретроградной менструации)	Фрагменты эутопического эндометрия попадают в полость малого таза в результате ретроградной менструации через маточные трубы и имплантируются на тазовых органах
Метапластическая	Трансформация перитонеальных клеток/тканей в эндометриоидную ткань посредством гормональных и/или иммунологических факторов
Гормональная	Эстроген-зависимая пролиферация эндометриоидных очагов и резистентность к прогестерон-опосредуемому воздействию на пролиферацию клеток эндометриоидных очагов
Теория оксидативного стресса и воспаления	Увеличение количества иммунных клеток и производства ими цитокинов, которые способствуют развитию и росту эндометриоидных очагов
Иммунологическая	Предотвращение элиминации менструальных фрагментов, заброшенных в полость малого таза при ретроградной менструации, и стимуляция способности к внедрению и росту эндометриальных клеток
Теория супрессии апоптоза и изменения эндометриальной клеточной гибели	Повышение выживаемости эндометриальных клеток и подавление регуляции апоптотических путей
Генетическая	Изменения в клеточном функционировании, которые способствуют адгезии эндометриальных клеток на брюшине малого таза и уклонению этих клеток от элиминирующих воздействий иммунной системы
Теория развития эндометриоидных гетеротопий из стволовых клеток	Инициирование эндометриоидных депозитов индифферентными клетками с врожденной способностью к регенерации

Широко известная теория ретроградной менструации объясняет этиологию эндометриоза, но не объясняет факт выживания эндометриальных клеток в полости малого таза у женщин с эндометриозом по сравнению со здоровыми женщинами. Объяснить это явление помогут исследования, основанные на молекулярно-генетическом изучении эутопического эндометрия женщин с эндометриозом. Такие исследования доказали, что эутопический эндометрий женщин с эндометриозом имеет повышенную способность к выживаемости, адгезии и ангиогенезу, а также обладает свойствами, способствующими уклонению от неблагоприятных элиминирующих факторов в полости малого таза [19, 222, 239, 300].

Гипоксия. Во время ретроградного заброса менструальной крови в полость малого таза, отторгнувшаяся эндометриальная ткань в связи с отсутствием собственного кровоснабжения сразу подвергается гипоксическому стрессу. Гипоксия индуцирует экспрессию генов, которые регулируют клеточную выживаемость, адгезию, ангиогенез, пролиферацию и воспалительные процессы, что способствует сохранению эктопических эндометриоидных имплантов и развитию эндометриоза [29, 79, 97, 163, 164, 165, 167, 234].

Эффекты гипоксии обычно опосредуются через гипоксия-индуцируемые факторы (HIF, например, такие как HIF-1 $\alpha$  и HIF-2 $\alpha$ ). Гипоксия-индуцируемый фактор-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), по-видимому, экспрессируется почти во всех типах клеток, тогда как экспрессия HIF-2 $\alpha$  сильна только в кровеносных сосудах [166].

Множество исследований [29, 166] показали, что HIF-1 $\alpha$ , основной транскрипционный фактор в ответе на гипоксию, значительно повышен в эктопической эндометриоидной ткани при эндометриозе и может влиять на транскрипцию в промотерных областях некоторых генов.

HIF-1 $\alpha$  ингибирует экспрессию фосфатазы двойной специфичности-2 (DUSP2) на уровне транскрипции. Ингибирование DUSP2, ядерной фосфатазы, которая инактивирует митоген-активированную протеинкиназу (МАРК), приводит к длительной активации p38 МАРК и киназы, активируемой

внеклеточным сигналом (ERK), и увеличению экспрессии циклооксигеназы-2 (COX-2). Экспрессия COX-2 и, таким образом, гиперпродукция простагландина E2 (PGE2), как известно, играют решающую роль в развитии воспалительного процесса при эндометриозе [165].

Повышенный уровень HIF-1 $\alpha$  в эктопических эндометриоидных стромальных клетках индуцирует абберантную экспрессию лептина в этих клетках. Повышенная экспрессия лептина в эндометриоидной ткани приводит к увеличению пролиферации стромальных клеток, что способствует развитию эндометриоидных очагов [29].

Показано, что HIF-1 $\alpha$  способствует повышению инвазивных свойств эндометриоидных клеток в эктопических эндометриоидных очагах и может индуцировать эпителиально-мезенхимальный переход (EMT), что способствует развитию и прогрессии эндометриоза [164].

Существует связь между гипоксией и  $\beta$ -катениновым сигнальным путем в патогенезе эндометриоза.  $\beta$ -катенин – главный структурный компонент межклеточных адгезионных соединений (адгезионные контакты), которые очень важны для поддержания эпителиальных слоев. Показано, что гипоксия/HIF-1 $\alpha$  активирует  $\beta$ -катениновый сигнальный путь, способствуя клеточной миграции и инвазии в процессе развития эндометриоза [166]. Кроме того,  $\beta$ -катенин также является нижним эффектором в Wnt-сигнальном пути, который играет ключевую роль в регуляции клеточного роста и развития [166].

Гипоксия также является широкоизвестным индуктором аутофагии. Этот процесс играет важную роль в поддержании клеточного гомеостаза при нормальных условиях и во время преодоления стрессового состояния. Аутофагия действует как механизм самопроизвольного выживания клеток при гипоксии. Аутофагичный ответ также может способствовать клеточному выживанию и прогрессии эндометриоидных очагов [97, 167].

Предыдущие исследования [167] показали, что HIF-1 $\alpha$  может связывать промотерную область микроРНК, таким образом увеличивая их транскрипцию.

Повышение экспрессии микроРНК-210, индуцированное гипоксией, может способствовать развитию эндометриоза, по крайней мере, за счет увеличения клеточной выживаемости и стимуляции аутофагии через ось Bcl-2/Bcl-1 [167].

HIF-1 $\alpha$  и аутофагия могут стать новыми и важными мишенями при лечении эндометриоза.

Миграция. Предыдущие исследования [56, 114, 292] показали, что определенные вещества, такие как цитокины, хемокины, протеазы и факторы роста, могут участвовать в регуляции развития эндометриоза. Трансформирующий фактор роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) является одним из основных факторов роста и положительно влияет на миграцию клеток эндометрия [56, 292].

У женщин с эндометриозом наблюдается повышение уровня TGF- $\beta$  в перитонеальной жидкости, эктопическом эндометрии и сыворотке крови [56, 292]. Повышенная экспрессия TGF- $\beta$  также наблюдается при некоторых типах рака [186, 292]. Известно, например, что TGF- $\beta$  вызывает миграцию и инвазию клеток при раке молочной железы и раке легких Smad-зависимом способом, индуцируя эпителиально-мезенхимальный переход (EMT) [61, 131, 150, 225, 292]. Миграция эндометриальной ткани за пределы полости матки и последующая инвазия в полости малого таза очень важны для развития эндометриоза, поэтому изучение регуляции данных процессов является одним из наиболее важных направлений в области исследования патогенеза эндометриоза.

Адгезия. Адгезия, инвазия и ангиогенез – фундаментальные патологические процессы эндометриоза. Эндометриальные клетки, попадающие в брюшную полость при ретроградной менструации, для выживания в условиях гипоксии должны непрерывно экспрессировать молекулы, вовлеченные в процессы миграции, адгезии и инвазии, что способствует их имплантации в брюшной полости и приводит к появлению эндометриоидных очагов и развитию эндометриоза.

Показана различная экспрессия белков адгезии и инвазии в эктопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого

заболевания. Молекулы с этими свойствами могут играть важную роль в закреплении клеток эутопического эндометрия на эктопических сайтах, тем самым инициируя развитие эндометриоидного очага [127]. К таким молекулам относятся, например, аполипопротеин Е (ApoE) (маркер клеточного выживания и пролиферации), молекула межклеточной адгезии-1 (JAM-1) и ламинины (семейство крупных адгезивных гликопротеинов).

Выявлено, что экспрессия генов *ApoE* и *JAM-1* понижена в эутопическом эндометрии пролиферативной и секреторной стадий у женщин с эндометриозом [127, 320]. Уровень мРНК гена *LAMC-1* понижен в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии у женщин с эндометриозом [127]. Изменение экспрессии ламинина-1 способствует адгезии менструального эндометрия к брюшине малого таза в течение пролиферативной стадии менструального цикла [127].

При транскриптомном исследовании (mRNA microarray analysis) эутопического и эктопического эндометрия женщин с эндометриозом и без этого заболевания выявлены различия в экспрессии 2663 генов. В эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом повышена экспрессия 2255 генов и понижена экспрессия 408 генов. Гены, экспрессия которых повышена в эутопическом эндометрии, преимущественно связаны с фокальной адгезией (например, *FNI*, *EGF*, *FYN*, *EGFR*, *RAC1*, *CCND1* и *JUN*), регуляцией актинового цитоскелета (например, *FNI*, *EGF*, *EGFR*, *RAC1* и *JUN*), MAPK-сигнальным (например, *EGF*, *EGFR*, *RAC1*, *JUN*, *TGFB1* и *MYC*) и рибосомальным путями [222, 239, 321]. Кроме того, в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом активирован TGF $\beta$ -сигнальный путь (*TGFB1*, *SMAD1* и *SMAD4*) [222].

По данным другого полногеномного исследования [320], в эутопическом и эктопическом эндометрии при эндометриозе также наиболее измененными являются механизмы клеточной и биологической адгезии. Фосфопротеомный анализ также показал, что рибосомальный путь, путь фокальной адгезии и MAPK-сигнальный путь являются основными путями дисрегулированными на уровне фосфорилирования в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом [239].

Эти результаты подтверждают гипотезу о том, что повышенная адгезия, выживаемость и инвазия играют важную роль в развитии эндометриоза.

Инвазия. Следующим этапом после адгезии является процесс инвазии эндометриальных клеток в брюшину малого таза, что происходит при участии матриксных металлопротеиназ (MMPs). Изменение ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса в связи с повышенной локальной концентрацией MMPs способствует повышенной адгезии и инвазии эндометриальных фрагментов, попавших в брюшную полость при ретроградной менструации [52]. В последующем происходит пролиферация эндометриальных клеток, внедрившихся в брюшину малого таза, и образование эндометриоидных гетеротопий под действием факторов роста и стероидных гормонов [166, 187].

Эндометриальные стромальные клетки выделяют несколько MMPs, которые находятся под контролем яичниковых гормонов [52, 98]. Выявлена значительно более высокая экспрессия MMP-2 и MMP-9 в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания [98, 160, 166]. Другие исследования [52, 98, 160, 166, 178, 196] показали, что экспрессия MMP-9, MMP-2, MMP-7 и MMP-3 повышена в эндометриоидной ткани, а изменения экспрессии MMP-9 – важный фактор развития эндометриоза.

Хорошо известно, что однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) в генах MMPs могут приводить к изменениям в их генной транскрипции и экспрессии и, таким образом, влиять на активность ферментов [52, 213]. Анализ полиморфизмов генов *ACE* и *MMP-2* показал отсутствие связи с эндометриозом, в то время как полиморфизмы генов *MMP-1*, *MMP-3* и *MMP-9* связаны с высоким риском развития этого заболевания. Аллельные комбинации MMPs, включающие аллели *MMP3(rs3025058)хMMP7(rs11568818)хMMP9(rs17576)*, показали статистически значимую связь с риском развития НГЭ [49].

Тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMPs) – это белки, специфически ингибирующие MMPs и таким образом поддерживающие баланс между деструкцией и формированием экстрацеллюлярного матрикса. Известно,

что нарушение баланса между MMPs и ассоциированными TIMPs играет важную роль в инвазивном фенотипе злокачественных опухолей.

Отношение экспрессии MMP-9/TIMP-1 значительно выше в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания, как на уровне мРНК, так и на уровне белка [178], что приводит к повышению инвазивного потенциала эутопического эндометрия женщин с эндометриозом.

Гены гомеобокса *HOXA10* и *HOXA11* являются регуляторами морфогенеза и дифференцировки тканей эмбриона и оказывают влияние на рост и дифференцировку эндометриальных клеток, рецептивность эндометрия, а также децидуализацию и восприимчивость к эмбриональной имплантации [160, 228]. Структурные и функциональные изменения эндометриальной ткани в течение предимплантационного периода также регулируются транскрипционными факторами HOXA-10 и HOXA-11, которые, в свою очередь, регулируют экспрессию молекул клеточной адгезии и MMPs [159, 160]. Значительно более низкая экспрессия генов *HOXA-10* и *HOXA-11* найдена в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания, как на уровне мРНК, так и на уровне белка [139, 158, 160, 305]. Исследования на животных [159, 160, 195] показали, что блокировка гена *HOXA-11* приводит к увеличению активности MMPs. У женщин с эндометриозом также наблюдается отрицательная корреляция между эндометриальной экспрессией HOXA-11 и MMP-2 и MMP-9 [160].

В нескольких исследованиях [102, 201, 300] сообщается об аномальном метилировании генов *HOXA-10* и *HOXA-11* в эндометриоидных очагах и эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом.

Ангиогенез. Для любой аутооттрансплантируемой ткани развитие адекватного кровоснабжения имеет решающее значение в сохранении ее жизнеспособности. Для выживаемости эктопического эндометриоидного очага в брюшной полости



также необходимо особое функционирование процессов ангиогенеза, которые схожи с таковыми при аутотрансплантации [11, 314].

Таким образом, дальнейшее развитие эктопического эндометриоидного импланта наблюдается в связи с усилением ангиогенеза, возникновением резистентности к апоптозу и местной иммуносупрессией (Рисунок 1).

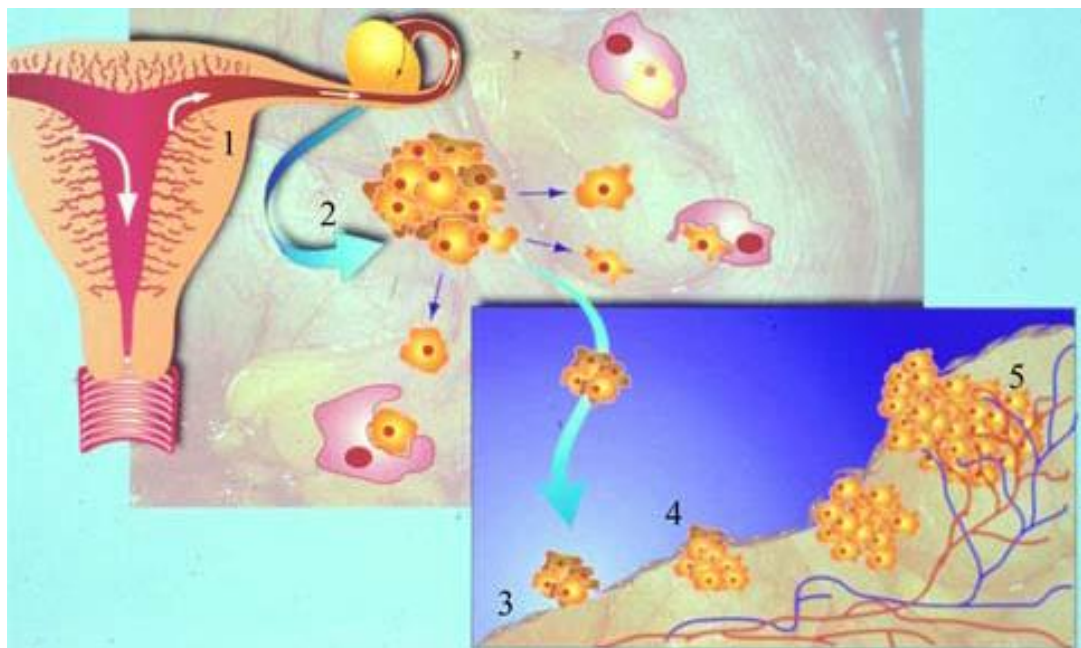


Рисунок 1. При менструации эндометриальная ткань в результате ретроградного тока (1) через маточные трубы попадает в брюшную полость (2). Фрагменты эндометриальной ткани адгезируются на брюшине (3), инвазируются (4) и начинают активно кровоснабжаться за счет быстрой васкуляризации (5).

Фрагменты эктопического эндометрия, попавшие в брюшную полость при ретроградной менструации, первоначально не имеют собственного кровоснабжения. Дальнейшее развитие эндометриоидных очагов зависит от гипоксия-индуцированного повышения экспрессии проангиогенных факторов роста, а последующее формирование новых микроваскулярных участков ведет к быстрой васкуляризации эндометриоидного очага. Это необходимое требование для длительной выживаемости и роста фрагментов эктопического эндометрия в брюшной полости, и образования эктопических эндометриоидных очагов.

Данные морфологические особенности могут быть визуализированы во время хирургического вмешательства – при проведении лапароскопического исследования активные поверхностные эндометриоидные очаги легко распознаются по обильной сосудистой сети [314].

В нескольких исследованиях [170, 224, 314] определена плотность сосудов и их диаметр в черных, красных и белых очагах. S.Matsuzaki и соавт. [170, 314] не обнаружили различий в сосудистой плотности между типами очагов, однако описали, что красные поражения имеют больше сосудов с малым диаметром ( $<10 \mu\text{m}$ ), тогда как черные поражения имеют значительно больше сосудов с большим диаметром ( $>20 \mu\text{m}$ ). Более того, митотический индекс эндотелиальных клеток значительно выше в красных поражениях, а индекс созревания сосудов значительно выше в черных поражениях [170, 314]. Эти наблюдения свидетельствуют о продолжающемся ангиогенном процессе в красных и черных перитонеальных поражениях с наличием более зрелых сосудов в черных, геморрагических, очагах [314].

В ряде исследований [97, 166, 314] продемонстрировано, что подавление ангиогенеза приводит к ингибированию роста эндометриоидного очага, однако основные механизмы этого процесса пока недостаточно изучены.

Процесс ангиогенеза регулируется большим количеством ангиогенных молекул [315]. Проангиогенные факторы активируют и способствуют формированию новых сосудов, тогда как антиангиогенные факторы ингибируют ангиогенез.

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) является важным медиатором ангиогенеза и сосудистой проницаемости [66, 166, 315]. VEGF (также известный как сосудистый эндотелиальный фактор роста А, VEGF-A) впервые описан как эндотелиальный клеточный митоген и мощный фактор проницаемости сосудов и является основным компонентом, стимулирующим как физиологический, так и патологический ангиогенез [130, 315]. Впоследствии были идентифицированы другие члены семейства VEGF – сосудистый

эндотелиальный фактор роста В, С, D и E (VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и VEGF-E), а также фактор роста плаценты (PlGF) [315]. VEGF продуцируется в больших количествах клетками эутопического эндометрия, которые находятся в условиях гипоксии во время менструальной стадии менструального цикла [314, 316], активированными макрофагами и Т-клетками [314] в менструальных выделениях, а также мезотелиальными клетками [284, 314].

Экспрессия белков VEGF-A, VEGF-B и VEGF-C повышена в эутопическом и эктопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с эутопическим эндометрием женщин без этого заболевания [315]. Известные данные [37, 315] свидетельствуют о центральной роли VEGF-A в развитии и прогрессии эндометриоза. Однако VEGF-C является преобладающим VEGF в эутопическом и эктопическом эндометрии женщин с эндометриозом и, возможно, также играет важную роль в патогенезе этого заболевания [315].

VEGF активирует сосудистый рост и сосудистые изменения в брюшине. Это подтверждается в исследовании J.A.Nagy и соавт. [232], которое продемонстрировало, что после инъекции опухолевого асцита или опухолевых клеток VEGF опосредует увеличение сосудистой проницаемости кровеносных сосудов, выстилающих брюшину, что приводит к экстравазации фибриногена. Экстравазация фибриногена и отложения фибрина, в свою очередь, приводят к генерации васкуляризованной соединительной ткани. Кроме того, эти фибриновые отложения могут улавливать лейкоциты и клетки эутопического эндометрия и прикреплять их к брюшине. Растворимые компоненты, присутствующие в перитонеальной жидкости, также способствуют ангиогенезу [310, 314]. Известно, что перитонеальная жидкость у женщин с эндометриозом производит специфическую микросреду для поддержания роста и развития эктопических гетеротопий [97]. Таким образом, ранние сосудистые реакции, часть из которых опосредованы VEGF, готовят брюшину к быстрой васкуляризации эндометриальной ткани [314].

Показано, что гипоксия/HIF-1 $\alpha$  активирует  $\beta$ -катениновый сигнальный путь, который участвует в регуляции экспрессии VEGF и MMPs, а они способствуют клеточной миграции, инвазии и ангиогенезу в процессе развития эндометриоза [166].

Ряд исследований [47, 50, 51, 317] посвящен изучению полиморфизмов гена *VEGF*, однако опубликованные статьи показали неокончательные результаты. Результаты метаанализа [317] показали, что rs699947 (A>C) и rs1570360 (G>A) в гене *VEGF* ассоциированы с низким риском развития эндометриоза, а rs3025039 (C>T) в гене *VEGF* ассоциирован с высоким риском развития этого заболевания. В то же время rs833061 (T>C) и rs2010963 (G>C) в гене *VEGF* не оказывали влияния на предрасположенность к эндометриозу [317]. По данным других исследований [47, 50], 1192C/T полиморфизм гена *VEGFR-2* и +936T/C полиморфизм гена *VEGF* связаны с повышенным риском развития эндометриоза, однако взаимосвязи между +450G/C полиморфизмом гена *VEGF* и риском развития эндометриоза не выявлено [51].

При изучении экспрессии других генов, ассоциированных с ангиогенезом, в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с эутопическим эндометрием женщин без этого заболевания выявлено значительное повышение уровней экспрессии *AKT1*, *TUFP*, *JAG-1*, *LAMA-5* и *TIMP-1* [248].

Экспрессия большого количества проангиогенных факторов повышена в образцах эндометриоза яичников по сравнению с эутопическим эндометрием, а именно: *ANGPT2*, *ANGPTL3*, *CXCL6*, *EFNB2*, *FGF1*, *FGF2*, *FIGF*, *HGF*, *HIF1A*, *IGF1*, *KDR*, *PTGS1* [248]. *ANGPT2*, *ANGPTL3* являются белками, сходными с ангиопоэтинами, и необходимы для формирования зрелых кровеносных сосудов. *CXCL6* является ангиогенным хемокином. Экспрессия других факторов понижена, а именно: *ANGPT1*, *ANGPTL4*, *CXCL10*, *EFNA3*, *EREG*, *ID1*, *IFNA1*, *IFNG*, *PROK2*, *SPHK1*, *TEK*, *TGFB1* и *TIMP2* [248]. *ANGPT1*, *ANGPTL4* являются белкам, сходным с ангиопоэтинами, и ингибируют пролиферативную активность, миграцию клеток и проницаемость сосудов. *CXCL10* относится к

ангиостатическим хемокинам. Повышение и понижение экспрессии этих генов способствует ангиогенезу.

Пролиферативная активность, супрессия апоптоза и изменение клеточной гибели. Широко распространено представление об эндометриозе как об опухолеподобном заболевании в связи с его метастатическим потенциалом, локальной тканевой инвазией и повышенным ростом и васкуляризацией эктопической эндометриоидной ткани [320].

В эутопическом эндометрии в течение менструального цикла апоптоз строго регулируется для поддержания тканевого гомеостаза и элиминации стареющих клеток [42, 313]. Развитие эндометриоза является результатом повышения клеточной пролиферации и понижения апоптоза ретроградного эутопического эндометрия в ответ на соответствующие стимулы [12, 13, 320].

Изменение апоптотической активности эндометриальных клеток связано с повышенной экспрессией антиапоптотических факторов. Антиапоптотический фактор bcl-2 является ключевым регулятором апоптоза и играет важную роль в модуляции внутреннего апоптотического пути [85, 120, 260, 313]. Считается, что в эутопическом эндометрии bcl-2 ингибирует апоптоз во время пролиферативной стадии менструального цикла [42]. Известно, что bcl-2 значительно повышен в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания [313]. Повышение экспрессии bcl-2 способствует ингибированию апоптоза в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом [40, 120, 313].

В ряде других исследований [41, 320] определено снижение апоптоза в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания во время секреторной стадии менструального цикла.

При транскриптомном исследовании (mRNA microarray analysis) эутопического эндометрия женщин с эндометриозом идентифицировано изменение экспрессии ряда генов, вовлеченных в важные сигнальные пути, такие как RAS/RAF/MAPK-путь, WNT-сигнальный путь, PI3K-путь и MAPK-

сигнальный путь [70, 239, 307, 312, 320]. В физиологических условиях MAPK-сигнальный путь связывает внеклеточные сигналы (факторы роста, гормоны) с ядром клетки, что приводит к экспрессии генов, ответственных за клеточную пролиферацию, дифференцировку и апоптоз. По каскаду RAS/RAF/MEK/ERK сигнал передается от мембранных рецепторов к ядру клетки. Протеин RAS фиксирован на внутренней поверхности клеточной мембраны, а RAF, MEK и ERK являются цитозольными белками. Передача сигнала по ERK-пути в конечном итоге приводит к повышению выживаемости, пролиферации и подвижности клеток [320]. WNT-сигнальный путь – внутриклеточный сигнальный путь, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку клеток и развитие злокачественных опухолей. PI3K/AKT/mTOR-путь – внутриклеточный сигнальный путь, центральными компонентами которого являются ферменты фосфоинозитид-3-киназа (PI3K), AKT и mTOR, отвечает за резистенцию к апоптозу, рост и пролиферацию клеток. Изменения в этих сигнальных путях способствуют трансформации фенотипа, повышая способность к клеточному росту, пролиферации, дифференцировке, клеточной выживаемости, адгезии и клеточной подвижности [266, 320], что является необходимым для инициации развития и роста эндометриоидных очагов.

Эндометриоз является доброкачественным заболеванием, однако обладает некоторыми биологическими характеристиками рака, такими как клеточная инвазия, активация ангиогенеза, неконтролируемый рост, резистенция к апоптозу, а также способность к метастазированию и хронический воспалительный процесс [76, 87, 197]. Проведенные исследования [76, 277] показали, что эндометриоидные поражения при эндометриоз-ассоциированном раке яичников проходят многоступенчатую трансформацию от типичного эндометриоза к атипичному, а затем к карциноме. Риск развития опухолей из эндометриоидной ткани оценивается приблизительно в 1%. Однако этот процент может быть выше, так как очень мало исследований посвящено изучению рака, развившегося из эндометриоидных гетеротопий [76, 87, 279].

Ген *RHOC* участвует в процессах реорганизации цитоскелета и клеточной адгезии, а также играет определенную канцерогенную и метастатическую роль при некоторых злокачественных опухолях. В эндометриoidных очагах обнаружено повышение экспрессии гена *RHOC* по сравнению с эутопическим эндометрием женщин с эндометриозом и без этого заболевания [267].

Выявлена ассоциация между уровнем мРНК гена человеческой теломеразы (*hTERT*) и развитием эндометриоза [30]. Экспрессия гена *hTERT* в эутопическом эндометрии и эндометриoidных очагах женщин с эндометриозом значительно выше при сравнении с эутопическим эндометрием женщин без этого заболевания [30].

Опухолевый супрессор *PTEN* кодирует белок, который дефосфорилирует фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат (PIP3), второй месенджер фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K). *PTEN* является антагонистом PI3K активности и отрицательно регулирует ее мишень серин/треонин-киназу АКТ. Фосфорилированная АКТ модулирует активность множества последующих белков, например проапоптотического фактора Bad, который подавляет апоптоз и способствует клеточному выживанию. PI3K/АКТ-сигнальный путь играет важную роль в регуляции выживаемости и апоптоза клеток при онкогенезе [227]. Выявлено понижение экспрессии гена *PTEN* и повышение экспрессии генов PI3K/АКТ-сигнального пути в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом [227].

Существуют гены, которые подавляют метастазирование на ранних этапах метастатического каскада, при этом не затрагивая первичный рост опухоли. Эти гены широкоизвестны как гены-супрессоры метастазирования [171]. Гены *KAI1* и *KISS1* относятся к таким генам-супрессорам метастазирования [171]. Белок *KAI1* связывается с протеинами, играющими важную роль в миграции клеток, такими как молекулы клеточной адгезии, и подавляет их активность, что приводит к уменьшению миграции клеток. Экспрессия *KAI1* значительно понижена в железах эутопического эндометрия женщин с эндометриозом по сравнению с

эутопическим эндометрием здоровых женщин. В то же время экспрессия KAI1 повышена в эктопической эндометриоидной ткани при сравнении с эутопическим эндометрием [171]. Экспрессия KISS1 значительно повышена в эктопической эндометриоидной ткани по сравнению с эутопическим эндометрием женщин с эндометриозом и без этого заболевания [171]. Низкая экспрессия KAI1 в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом позволяет эутопическому эндометрию десиминировать во вторичные эктопические сайты [171].

Гормональные факторы. Важную роль в патогенезе эндометриоза играют изменения в биосинтезе стероидных гормонов. Основными ферментами, участвующими в биосинтезе эстрогенов, являются ароматаза P450, 17- $\beta$  гидроксистероиддегидрогеназы (17 $\beta$ -HSD) 1, 2, 3, 5, 7 и 12 типов, стероидная сульфатаза (STS), которая конвертирует сульфатированные эстрогены в биологически активные эстрогены, а также стероидогенный фактор-1 (SF-1).

Ароматаза P450 и SF-1, кодируемый геном *NR5A1*, играют ключевую роль в патогенезе эндометриоза и являются важными терапевтическими мишенями [136, 215, 220]. SF-1 является транскрипционным фактором, который опосредует простагландин E<sub>2</sub>-индуцированную активацию всего стероидогенного каскада, в котором эстрадиол образуется из холестерина. Ароматаза также является ключевым ферментом и кодируется одним из генов этого каскада. Эффективное ингибирование ароматазы блокирует весь синтез эстрадиола (E<sub>2</sub>) и вызывает четкий терапевтический эффект у женщин с болевым синдромом при эндометриозе [220].

В полногеномных исследованиях [220] определены различия в CpG-метилировании между эутопическим эндометрием и эндометриоидными стромальными клетками. При эндометриозе аномальное метилирование CpG некоторых генов, кодирующих важные транскрипционные факторы, такие как GATA6, SF-1 и эстрогеновый рецептор- $\beta$  (ER- $\beta$ ), вызывает локальную гиперпродукцию эстрогенов и простагландинов, а также супрессию рецепторов прогестерона (PRs) [220]. Недостаточное количество PRs приводит к



прогестероновой резистентности, что вызывает уменьшение поглощения ретинола и продукции ретиноевой кислоты, а также к измененному действию ретиноевой кислоты. Совместно эти молекулярные дефекты способствуют снижению клеточной дифференцировки, повышению выживаемости и активации воспалительных процессов, которые являются биологическими признаками эндометриозной ткани [220]. Недавно опубликованные исследования [43, 44, 108, 220, 238] поддержали эту концепцию.

Механизм пути простагландин/E2/SF-1-активации ароматазы, также приводящий к формированию эстрадиола, является эпигенетическим по происхождению и включает патологическое метилирование гена *NR5A1* (SF-1) [136, 162, 215, 220]. Метилирование кодирующей последовательности экзон/интрон в гене *NR5A1* положительно регулирует его экспрессию при эндометриозе, тогда как его гипометилирование в нормальном эутопическом эндометрии связано со значительно более низким уровнем SF-1. Уровень мРНК гена *NR5A1* в эндометриозных стромальных клетках значительно выше по сравнению с нормальным эутопическим эндометрием [162]. Эти данные подтверждаются иммуногистохимически: уровень белков SF-1 и StAR значительно выше в эктопической эндометриозной ткани по сравнению с нормальным эутопическим эндометрием, а также ассоциирован с тяжестью заболевания [128]. В других исследованиях [286] наблюдалась сверхэкспрессия SF-1 в кортикальных и медуллярных мезенхимальных клетках яичников, смежных с эндометриозными гетеротопиями. Повышение уровня SF-1 в эндометриозных очагах приводит к увеличению локальной продукции эстрогенов [162].

Эстрогеновый рецептор- $\beta$  (ER- $\beta$ ) является ключевым медиатором эстрогеновой активности при эндометриозе и способствует пролиферации стромальных клеток, резистенции к апоптозу и поддержанию воспалительного процесса [26, 220]. Экспрессия ER- $\beta$ , кодируемого геном *ESR2*, повышена в 140 раз в эндометриозной ткани или стромальных клетках по сравнению с

эутопическим эндометрием, тогда как уровни мРНК гена *ESR1* и его белка – эстрогенового рецептора- $\alpha$  (ER- $\alpha$ ) значительно ниже [126, 136, 220, 272]. Ключевым механизмом гиперэкспрессии ER- $\beta$  в эндометриоидной ткани является патологическое гипометилирование его промотера, что приводит к невозможности подавления гиперэкспрессии его белкового продукта. Эстрадиол через ER- $\beta$  индуцирует экспрессию некоторых генов, кодирующих сигнальные белки, такие как киназы и ГТФазы, которые активируют различные клеточные пути. В частности, в качестве ключевой мишени ER- $\beta$  идентифицирован фермент, ингибитор RAS-подобного эстроген-регулируемого роста (RERG, ГТФаза), который опосредует важные последующие реакции эстрогена. Эта сигнальная молекула регулирует различные патологические процессы, например, такие как клеточная пролиферация и устойчивость к апоптозу [121, 220].

Таким образом, уровень мРНК гена ER- $\beta$ , но не ER- $\alpha$ , повышен в эктопической эндометриоидной ткани по сравнению с эутопическим эндометрием. Экспрессия ER- $\alpha$  и сфингозин-1-фосфатной лиазы 1 (SGPL1) в основном определяется в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии менструального цикла, а не в эктопическом эндометрии женщин с эндометриозом яичников [126]. Супрессия ER- $\alpha$ , которая наблюдается в секреторную стадию в эутопическом эндометрии, имеет важное значение для успешной имплантации и децидуализации [196, 287].

При исследовании ДНК метилирования промотеров генов стероидных рецепторов *ESR1*, *ESR2* и *PGR* в эндометриоидных гетеротопиях [103, 300] выявлено, что метилирование гена *PGR* наблюдалось в 39% и 19% случаев в промотерных регионах В (*PGRB*) и А (*PGRA*) соответственно. Метилирование аллелей гена *PGRB* обнаружено исключительно в эндометриоидных очагах по сравнению с эутопическим эндометрием от тех же женщин. По данным иммуногистохимического исследования, уровень PRs в эндометриоидной ткани также имеет тенденцию к снижению [57, 58, 249]. Недостаточное количество PRs приводит к прогестероновой резистентности, то есть эктопическая

эндометриоидная ткань не реагируют на действия прогестерона. Фенотип эндометриоидной ткани с резистенцией к прогестерону связан с повышенной способностью к клеточной пролиферации и выживаемости [94, 196]. Однако является ли измененное регулирование PRs причиной или следствием прогестероновой резистентности при эндометриозе, пока не понятно [35].

По данным полногеномных исследований, в эндометриоидной ткани изменена экспрессия ERs [28, 196, 235, 272, 287], PRs [28, 94, 196, 235, 287], GREB1 [196, 298], PENK [196], RXRA [196, 265], SCARB1 [196, 265], PGRMC1 [196, 251], PRL [174, 196], 17 $\beta$ -HSD2 [32, 161, 196], MAFF [196, 265], FSTL3 [196, 265] и PGRMC2 [132, 196].

Таким образом, эндометриоидная ткань женщин с эндометриозом по сравнению с эутопическим эндометрием женщин без эндометриоза характеризуется повышенным отношением ER- $\beta$ /ER- $\alpha$  и пониженным отношением PR- $\beta$ /PR- $\alpha$  [94, 196]. Это приводит к увеличению локальной продукции эстрогенов и росту эндометриоидных гетеротопий [196].

Уровень экспрессии ароматазы P450 в эндометриоидных очагах значительно выше по сравнению с эутопическим эндометрием, что, несомненно, создает все условия для синтеза эстрогенов непосредственно в очагах эндометриоза. Именно ароматазе отводится основная роль в обеспечении так называемой локальной гиперэстрогении в микроокружении клеток регургитированного эутопического эндометрия. В эндометриоидной ткани экспрессия гена *CYP19A1* повышена в 9-30 раз, а экспрессия 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы, фермента, который контролирует один из первых этапов биосинтеза стероидных гормонов, повышена в 400 раз. Избыточный локальный синтез эстрогенов не только создает все предпосылки для развития заболевания (стимуляция пролиферации клеток в эндометриоидных очагах, инвазивный рост), но и делает эндометриоидные гетеротопии резистентными к системной гипоэстрогении [43, 44, 220].

Продемонстрирована терапевтическая эффективность ингибиторов ароматазы: летрозол ингибировал и подавлял рост перитонеальных эндометриодных очагов у бабуинов путем нарушения ароматазного пути [44, 220]. Показана эффективность лечения ингибиторами ароматазы женщин с рефрактерной эндометриоз-ассоциированной болью, не поддающейся другим методам лечения [43, 220].

В капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием также вывлено аномальное метилирование и различная экспрессия генов, отвечающих за стероидогенез: *NR5A1*, *STAR*, *STRA6* и *17 $\beta$ -HSD2* [137, 250, 300]. Поскольку SF-1 является транскрипционным фактором, который индуцирует экспрессию генов *STAR* и *CYP19A1*, кодирующих ароматазу, высокая экспрессия SF-1 может способствовать повышению уровня мРНК генов *STAR* и *CYP19A1* в капсуле ЭКЯ. В то же время в капсуле ЭКЯ определена низкая экспрессия генов *STRA6* и *17 $\beta$ -HSD2*. Низкая экспрессия гена *STRA6* в эндометриодных стромальных клетках ассоциирована с уменьшением концентрации активных ретиноевых кислот, что, в свою очередь, снижает экспрессию гена *17 $\beta$ -HSD2* в клетках эндометриодных гетеротопий [117, 137]. *STRA6* является важным рецептором клеточной поверхности для ретинол-связывающего белка и необходим для поглощения ретинола клетками. *17 $\beta$ -HSD2* превращает эстрадиол в эстрон. Таким образом, низкая экспрессия генов *STRA6* и *17 $\beta$ -HSD2* также способствует повышенному эндогенному синтезу эстрадиола [137].

При исследовании взаимосвязи между эндометриозом и генетическими полиморфизмами, ассоциированными с эстрогеновым биосинтезом, установлено, что мутантный ген *CYP19* (ген ароматазы) связан с высоким риском развития эндометриоза в одинаковых по возрасту и паритету группах женщин [276]. Однако взаимосвязи между другими исследованными SNPs (*17 $\beta$ -HSD1*, *17 $\beta$ -HSD2*, *17 $\beta$ -HSD5*, *17 $\beta$ -HSD6*, *CYP17*, *ER- $\alpha$* , *ER- $\beta$*  и *PRs*) и риском развития эндометриоза в этом исследовании не найдено [276]. В то же время M.Tsuchiya и соавт. [46] определили, что полиморфизм Ser312Gly в гене *17 $\beta$ -HSD1*

ассоциирован с риском развития и тяжестью эндометриоза. Секвенирование гена *CYP2C19* привело к обнаружению большого количества уже известных и новых SNPs, ассоциированных с развитием эндометриоза, например, rs12248560 выполняет протективную роль, в то время как rs4244285 повышает риск развития данного заболевания. Это подтверждает гипотезу о том, что SNPs гена *CYP2C19* могут влиять на риск развития эндометриоза, воздействуя на локальный и центральный эстрогеновый метаболизм [77]. В другом исследовании [84] установлено, что полиморфизмы гена *CYP19* не связаны с восприимчивостью к эндометриозу у китайских женщин, в то время как rs700518AA гена *CYP19* связан с развитием восприимчивости к эндометриоз-ассоциированному бесплодию.

В эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания значительно повышена экспрессия антимюллера гормона (АМН) и мРНК и белка рецептора II антимюллера гормона (АМНRII) [176]. Эктопическая эндометриоидная ткань (ЭКЯ, глубокий инфильтративный эндометриоз) экспрессирует еще более высокие уровни АМН, мРНК и белка АМНRII по сравнению с эутопическим эндометрием женщин с эндометриозом и без этого заболевания [176]. Увеличение уровней АМН/АМНRII в эндометриоидной ткани и эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом может играть важную роль в развитии заболевания, вероятно влияя на воспалительные процессы и апоптоз [176, 200].

Воспалительные изменения. Имплантация эутопического эндометрия в полости малого таза представляет собой многоступенчатый процесс, включающий адгезию, инвазию, ангиогенез, пролиферацию и стероидогенез. Все эти фазы сопровождаются выраженными воспалительными изменениями, которые способствуют поддержанию эндометриоидных очагов в полости малого таза и их прогрессии в более тяжелые формы эндометриоза [211, 282].

Гистологически эндометриоидный очаг представляет собой гетерогенный очаг, который состоит из эндометриальных желез и стромы и окружен по краям выраженным воспалительным процессом, который вызван неправильной

локализаций эутопического эндометрия [73, 211]. Такая хроническая воспалительная реакция приводит к усилению процесса и способствует выживаемости эндометриoidных очагов в полости малого таза [211, 282].

В некоторых исследованиях [321] показано, что брюшинные лейкоциты и их воспалительные медиаторы проявляют локальные эффекты, создавая микросреду, которая способствует развитию и прогрессии эндометриoidных очагов. В ответ на рост клеток эктопической локализации активируются воспалительные (хемотаксис нейтрофилов, активация комплимента) и иммунные механизмы (активация Т-клеток, секреция цитокинов, хемокинов). Более того, эндометриоз характеризуется воспалительным процессом с локальным накоплением иммунных клеток и их медиаторов, которые связаны с гиперпродукцией простагландинов, металлопротеиназ, цитокинов и хемокинов [64, 211]. Активные формы кислорода (ROS) и свободные радикалы также способствуют приживаемости и прогрессированию заболевания, активно участвуя в воспалительном процессе [211, 231].

Перитонеальная жидкость женщин с эндометриозом содержит большое количество активированных макрофагов и имеет выраженные изменения в цитокин/хемокин профиле [211]. В нескольких исследованиях [182, 211, 278] найдено большое количество цитокинов и хемокинов, экспрессия которых изменена в перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом. Среди них фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (MIF), TNF- $\alpha$ , IL-1b, IL-6, IL-8, IL-19, IL-22, IL-33, RANTES и моноцитарный хемотаксический белок-1 (MCP-1) [182, 211, 278]. Последние два являются хемоаттрактантами, которые содействуют вербовке макрофагов. Однако являются эти профили цитокинов причиной или следствием эндометриоза еще предстоит определить.

Патофизиология эндометриоза характеризуется высоким уровнем простагландинов в перитонеальном микроокружении. Они играют важную роль как в генезе заболевания, так и в клинических проявлениях, таких как боль и бесплодие. Перитонеальные макрофаги женщин с эндометриозом экспрессируют

относительно высокие уровни циклооксигеназы-2 (COX-2, также известной как простагландиновая эндопероксидная синтетаза-2 – PTGS2) и высвобождают значительно более высокие уровни простагландинов по сравнению с макрофагами здоровых женщин [100, 211]. В эндометриоидных гетеротопиях TNF- $\alpha$  активирует продукцию простагландина F2a (PGF2a) и простагландина E2 (PGE2) эндометриоидными клетками [211]. Активация гена *PTGS2* с помощью IL-1b также приводит к увеличению продукции PGE2, который активирует стероидогенную транскрипцию фактора SF-1 и ароматазы P450 (*CYP19*) [211, 250]. Активация стероидогенеза приводит к увеличению синтеза эстрадиола, который, в свою очередь, стимулирует синтез PGE2. Таким образом, существует самоподдерживающийся эндометриоидный очаг, который является результатом плотной зависимости между локальной гиперэстрогенией и воспалительным процессом [211, 271].

Этот воспалительный процесс происходит не только в перитонеальном микроокружении на участках эктопических эндометриоидных очагов, но и в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом. Поскольку прогестерон обладает противовоспалительными свойствами, воспалительный процесс в эутопических и эктопических тканях у женщин с эндометриозом может быть прямым следствием отсутствия прогестероновой активности в эндометриоидных тканях. Прогестероновая резистентность, по-видимому, является основным механизмом, лежащим в основе воспалительного процесса при эндометриозе [211].

Простагландины являются основными медиаторами воспаления, а эутопический эндометрий – одна из тканей человеческого организма с высоким уровнем этих воспалительных агентов. Перитонеальная жидкость женщин с эндометриозом имеет очень высокие уровни простагландинов, произведенных локально не только макрофагами, но и эктопической эндометриоидной тканью [100, 101, 177, 211]. Показано, что пути простагландинов дисрегулированы в эутопическом и эктопическом эндометрии у женщин с эндометриозом.

Экспрессия гена *PTGS2* значительно повышена в эутопическом и эктопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению со здоровой тканью. Экспрессия гена *PTGS1* значительно снижена только в эктопическом эндометрии [157, 211]. Это подтверждено как на уровне транскрипции, так и на белковом уровне. Экспрессия *PTGER2*, *PTGER3* и *PTGER4* постепенно повышается от нормальной ткани к эутопическому и эктопическому эндометрию женщин с эндометриозом [211].

Провоспалительные цитокины, такие как IL-1b, TNF- $\alpha$  и PGE2, индуцируют экспрессию *PTGS2* перитонеальными макрофагами у женщин без эндометриоза, предположительно, они представляют локальные факторы, которые лежат в основе наблюдаемой сверхэкспрессии *PTGS2* у женщин с эндометриозом [100, 211]. С другой стороны, в других исследованиях [101, 177, 211] обнаружили, что гиперэкспрессия гена *PTGS2* в эктопических эндометриоидных очагах отражается на увеличении продукции PGE2 стромальными клетками эктопических эндометриоидных очагов. Многочисленные факторы, такие как IL-1b, VEGF, 17 $\beta$ -эстрадиол, а также PGE2, могут стимулировать экспрессию *PTGS2* эндометриальными стромальными клетками [101, 181, 211].

Эти результаты показывают, что у женщин с эндометриозом наблюдается активная сверхэкспрессия *PTGS2* как перитонеальными макрофагами, так и макрофагами эутопического и эктопического эндометрия [100, 101, 157, 177, 211]. Это связано с наличием положительной обратной связи *PTGS2*-PGE2-эстрогены в эктопических эндометриоидных стромальных клетках [211, 272] и *PTGS2*-PGE2-провоспалительные цитокины (такие как IL-1b и TNF- $\alpha$ ) в перитонеальных макрофагах [100, 211]. В результате концентрация PGE2 в перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом постоянно высокая, что приводит к самораспространению эндометриоидного воспалительного процесса, что способствует прогрессии и росту эндометриоидных очагов [211].

Эндометриоидные стромальные клетки показывают аномально высокий уровень продукции эстрогенов [211, 250, 259]. Эктопические эндометриоидные



клетки экспрессируют полный комплекс ферментов и протеинов, используемых для синтеза эстрогенов *de novo*: StAR, P450<sub>scc</sub>, 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа 2 типа, 17-гидроксилаза, 20 лиаза (P450<sub>c17</sub>), ароматаза P450 и 17 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа 1 типа (17 $\beta$ -HSD1) [211, 250, 308]. Таким образом, эктопические эндометриоидные поражения имеют все компоненты для инициации стероидогенеза. Биосинтез эстрогенов *de novo* контролируется на двух разных стадиях StAR и ароматазой. StAR переносит холестерин через мембрану и весь путь внутри митохондрий, где происходит первая ферментативная реакция [211]. Ароматаза катализирует превращение андростендиона в эстрон, который затем превращается в эстрадиол под действием 17 $\beta$ -HSD1. В нескольких исследованиях [81, 211, 259] показано, что StAR и ароматаза регулируются и одновременно стимулируются PGE<sub>2</sub> в эндометриоидных стромальных клетках. Экспрессия StAR опосредуется PGE<sub>2</sub> через связывание с рецептором PTGER<sub>2</sub>, который затем активирует аденилциклазу и протеинкиназу A. Регуляция экспрессии ароматазы в эктопических эндометриоидных стромальных клетках опосредуется PGE<sub>2</sub> через сигнальные пути PTGER<sub>2</sub> и PTGER<sub>4</sub> [211, 258]. Сверхэкспрессия SF-1 в эктопических эндометриоидных клетках способствует повышенной чувствительности этих клеток к PGE<sub>2</sub> [211, 258, 306]. Другие стероидогенные ферменты, такие как P450<sub>scc</sub>, 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа 2 типа (3 $\beta$ -HSD2) и P450<sub>c17</sub> также стимулируются PGE<sub>2</sub> в эктопических эндометриоидных стромальных клетках, тем самым участвуя в стероидогенезе, который вызван воспалительным процессом [211, 250]. Эстрогены, синтезированные таким образом, затем могут действовать через аутокринные или паракринные пути воздействия на стромальные и эпителиальные клетки, присутствующие в эндометриоидных очагах, тем самым индуцируя пролиферативные и антиапоптотические сигналы [211].

MAPK-сигнальный путь опосредует индукцию различных клеточных процессов, таких как пролиферация, дифференцировка, воспаление, миграция, стрессовые реакции и апоптоз. Воспалительные реакции включают спектр генов,

медиаторов, цитокинов и факторов роста: IL-1b, IL-6, TNF- $\alpha$ , хемокины, MMPs и токсичные молекулы, такие как ROS. MAPK-сигнальный путь может быть активирован оксидативным стрессом. Также при воспалительном процессе этот путь может быть активирован путем связывания провоспалительных цитокинов с их тирозинкиназным рецептором. Как правило, секретируемые макрофагами IL-1b и TNF- $\alpha$  активируют MAPK-синальный путь, что стимулирует выработку воспалительных цитокинов (например, IL-1b, IL-6, IL-8) и активацию гена *PTGS2*. Это в конечном итоге приводит к повышению количества иммунных клеток и усилению воспалительного ответа положительной петлей обратной связи [191, 211, 217]. Кроме того, MAPK-сигнальные каскады участвуют в механизмах клеточной выживаемости путем передачи сигналов, которые влияют на транскрипцию факторов регулирующих апоптоз [69, 211]. Последний может активировать bcl-2, тем самым генерируя антиапоптотический сигнал [148, 211, 240]. Наконец, MAPK-сигнальный путь может приводить к фосфорилированию каспазы 9, что приводит к ее инактивации и, таким образом, предотвращает апоптоз эндометриоидных клеток [211].

Нарушение процессов репарации генома. По данным полногеномных исследований [320], в эутопическом и эктопическом эндометрии женщин с эндометриозом одной из наиболее измененных групп генов является группа генов модификации хроматина – *CHD6*, *MLL*, *MLL3* и *KDM5A*. Также найдены частые альтерации в 18 других генах комплекса ремоделирования хроматина – это гены *ING5*, *RSF1*, *CREBBP*, *INO80*, *TTF1*, *CECR2*, *ARID1A*, *RPS6KA5*, *MLL5*, *BAZ1B*, *KDM2A*, *SMARCD3*, *KDM3A*, *KDM3B*, *SETD2*, *BAZ2A*, *MLL4*, *BRD8* [320]. Из этих генов 4 гена идентифицированы как члены MLL-комплекса (*MLL*, *MLL3*, *MLL4*, *MLL5*), который кодирует гистоновую метилтрансферазу (HMT) и участвует в гистоновой H3-лизин 4 модификации. Остальные гены относятся к другим родственным генам: гены гистон-деметилазы (HDMT) – *KDM5A* (*JARID1A*), *KDM2A* и *KDM3B*; два гена комплекса ремоделирования хроматина, связанных с SWI/SNF – *SMARCD3* и *ARID1A*; ген гистон ацетилтрансферазы (HAT) – *CREBBP*;

и другие гены комплекса ремоделирования хроматина, такие как *CHD6* (кодирующий компонент семейства хеликазы SNF2/RAD54, который ремоделирует хроматин для ткань-специфической генной экспрессии) и *SETD2* (кодируемая только у человека H3K36 триметилтрансфераза) [320]. Изменения в комплексе ремоделирования хроматина и генов репликации ДНК также найдены в различных опухолях [104, 125, 322]. Таким образом, эпигенетические изменения хроматиновой регуляции и посттрансляционные модификации играют важную роль в патогенезе эндометриоза [320].

Оксидативный стресс является компонентом воспалительной реакции связанной с эндометриозом и в долгосрочной перспективе может вызывать генетические повреждения, такие как мутации единственной пары оснований ДНК [183, 216, 223]. Система репарации ДНК (MMR) важна для поддержания генетической стабильности. Система MMR состоит из различных белков: шести MutS гомологов (*MSH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH4*, *MSH5* и *MSH6*) и четырех MutL гомологов (*MLH1*, *PMS1*, *PMS2* и *MLH3*) [216]. MMR-белки распознают и фиксируют несоответствия пар оснований в ДНК, возникающие во время репликации ДНК, гомологичной рекомбинации или других форм повреждения ДНК, например, таких как окислительный стресс [88, 216].

Одним из результатов неправильного функционирования MMR является микросателлитная нестабильность (MSI). Микросателлиты – это некодируемые области мононуклеарных или динуклеарных кислотных повторов, которые химически нестабильны и подвержены мутациям [216, 273]. Хотя MSI обычно участвует в молекулярном патогенезе канцерогенеза эпителиальных клеток [223], новые данные [216, 273] свидетельствуют, что такая дисфункция также обнаруживается в мезенхимальных клетках, подвергающихся тканевому ремоделированию при хронических воспалительных процессах. Патофизиология измененного поведения мезенхимных клеток может быть связана с накоплением повреждений ДНК, которые непосредственно связаны с измененным функционированием ДНК-MMR. Это приводит к неконтролируемой клеточной

пролиферации, связанной либо с доброкачественной патологией, либо с неопластической трансформацией.

Обнаружено значительное снижение большинства белков MMR в стромальном компоненте эндометриоидной ткани [216]. При этом обнаружено значительное повышение экспрессии MSH2 по сравнению с другими белками MMR – экспрессия MSH2 значительно выше в эндометриоидной ткани по сравнению с эутопическим эндометрием и положительно коррелирует с экспрессией ki-67. Таким образом, повышение экспрессии MSH2 в эндометриодных клетках, по-видимому, связано с повышением пролиферативной активности. Это может быть еще одним механизмом, объясняющим повышение пролиферативной активности клеток эктопических эндометриодных очагов [216].

В некоторых исследованиях [183, 216, 226] снижение экспрессии белков MMR и MSI в эндометриоидной ткани связывают с последующим развитием эндометриоз-ассоциированного рака.

Различные теории о патогенезе эндометриоза указывают на то, что этиология этого заболевания сложная и многофакторная и включает гормональный, генетический, иммунный и экологический компоненты [281]. Ретроградная менструация рассматривается в качестве основного инициирующего фактора в патогенезе поверхностного эндометриоза, в то время как генетические и экологические факторы препятствуют элиминации эндометриоидных клеток и ремоделированию брюшины, которые являются важными факторами в выживаемости и дальнейшем развитии эндометриодных очагов [107, 184, 281]. Распространению эндометриоза в полости малого таза также способствует изменение состава перитонеальной жидкости, как результат генетических и гормональных факторов, а так же факторов окружающей среды [129, 281].

Однако ретроградная менструация не может объяснить патогенез ретроцервикального/ректовагинального эндометриоза, так как глубокий инфильтративный эндометриоз не может быть вызван путем брюшинной

инстилляций менструального эндометрия на животной модели [185, 281]. Однако глубокие инфильтративные эндометриозидные поражения могут быть вызваны на бабуиновой модели при трансплантации базальной эндометриальной ткани [180, 281].

В последнее десятилетие благодаря быстрому развитию молекулярной биологии широкое применение в медицине и экспериментальных исследованиях находят «омиксные технологии». «Омиксные технологии» – это технологии, позволяющие производить и анализировать большие объемы биологических данных. Данные высокопроизводительной функциональной геномики, транскриптомики и протеомики ускорят понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе патогенеза эндометриоза и многих других заболеваний, а также помогут найти молекулярные маркеры многих заболеваний [15, 23, 25].

### **1.3 Современные представления о лечении эндометриоза**

Выбор медикаментозного лечения эндометриоз-ассоциированных симптомов, таких как хроническая тазовая боль, дисменорея и диспареуния, зависит от возраста, стадии заболевания и репродуктивных планов пациентки, а также от рисков лечения, побочных эффектов и стоимости препаратов [55, 124, 229, 257]. В большинстве случаев женщинам с хроническим болевым синдромом предположительно ассоциированным с эндометриозом первоначально назначают нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), анальгетики, комбинированные эстроген-гестагеновые контрацептивы (КОК) и прогестины. Эти препараты рассматриваются в качестве терапии первой линии при лечении эндометриоза [1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 16, 17, 18, 24, 55, 124, 188, 229, 214, 252].

Существует одно РКИ [209], подтвердившее положительный эффект КОК на дисменорею. Однако имеются весьма ограниченные доказательства положительного влияния КОК на ациклическую тазовую боль [55].

Наиболее часто для лечения эндометриоз-ассоциированных симптомов используются диеногест, прогестин четвертого поколения, и агонисты гонадотропин-релизинг гормона (аГнРГ).

Прогестиновая терапия часто используется у пациенток с симптоматическим эндометриозом и обычно назначается при противопоказаниях к приему КОК из-за наличия побочных эффектов или отсутствия достаточного купирования болевых ощущений. С этой целью обычно используется большое количество оральных, парентеральных, внутриматочных и имплантируемых прогестинов. Прогестины ингибируют рост эндометриоидной ткани, вызывая децидуализацию с последующей атрофией эндометриоидных имплантов и снижением перитонеальных воспалительных маркеров [245]. Дополнительные возможные механизмы действия включают ановуляцию с подавлением сывороточной концентрации эстрогенов, супрессию MMPs-опосредуемого роста эндометриоидных гетеротопий и имплантации эутопического эндометрия, ингибирование ангиогенеза и иммуномодуляции [198]. Диеногест является самым последним членом этого семейства, и его использование в разных странах за последнее десятилетие увеличилось в геометрической прогрессии.

Диеногест – это стероидный селективный прогестин четвертого поколения, который сочетает фармакологические свойства 19-нортестостерона и производных прогестерона. Диеногест обладает антиандрогенной активностью и, таким образом, не вызывает андрогенных побочных эффектов на коже [55]. На фармакокинетическом уровне диеногест быстро всасывается после перорального приема с примерно 90% биодоступностью и связывается исключительно с альбумином (90%), а не с глобулином, связывающим половые гормоны, или кортикоид связывающим глобулином [59]. Диеногест метаболизируется в печени главным образом изоформой 3A4 цитохрома P450 (CYP3A4) с последующим быстрым выведением его неактивных метаболитов [59]. Диеногест оказывает глубокое локальное влияние на эндометриоидные очаги с небольшой андрогенной, эстрогенной, глюкокортикоидной и минералокортикоидной

активностью и оказывает минимальное воздействие на метаболические параметры [59].

Проведенные исследования [95] показали, что диеногест оказывает как анновуляторный, так и антипролиферативный эффекты, одновременно ингибируя секрецию цитокинов в строме клеток эндометрия. В систематическом обзоре [105], основанном на 15 исследованиях, изучался воспалительный ответ эндометриоидной ткани при терапии диеногестом. Диеногест модулирует простагландиновую продукцию и метаболизм (PGE<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>-синтазы, COX-2 и микросомальной PGE-синтазы-1), таким образом, проявляя противовоспалительные эффекты. Кроме того, его использование ассоциировано с провоспалительными цитокинами и хемокинами: IL-1b, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , моноцитарный хемоаттрактант-белок-1 и фактор-1 стромальной клетки. Более того, диеногест влияет на биосинтез факторов роста (VEGF и фактор роста нервов) и сигнальных киназ, ответственных за контроль воспалительных реакций. Имеются данные, подтверждающие противовоспалительный эффект диеногеста на уровне эпителиальных и стромальных клеток. Этот эффект опосредуется через PRs в эпителиальных клетках [105, 299].

Может назначаться монотерапия диеногестом или диеногест-эстрадиол комбинированная терапия.

Сообщалось об успешном назначении диеногеста у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом с или без висцерального поражения [93]. В этом исследовании [93] эффективность терапии диеногестом оценивалась у 6 пациенток с эндометриозом мочевого пузыря. Терапия хорошо переносилась пациентками в течение 1 года, и отмечалось быстрое улучшение мочеиспускания и купирование болевых симптомов, а также уменьшение размеров эндометриоидных очагов. Исследователи предлагают использовать диеногест как лечение первой линии в подобных случаях [93]. Аналогичный эффект отмечался у пациенток с эндометриозом мочевого пузыря и наличием влагалищного имплантата [96] и у пациенток с ректосигмовидным эндометриозом [92]. Однако

правильно проведенных исследований, сравнивающих диеногест с плацебо или другими медикаментозными вариантами лечения НГЭ, еще не проведено.

Прогестины, используемые для контрацепции, могут вызывать некоторые нежелательные побочные эффекты, которые возникают из-за неспецифического связывания с андрогенными и глюкокортикоидными рецепторами. Прогестины нового поколения, такие как диеногест, как правило, имеют большую специфичность к рецепторам прогестерона [280]. Побочные эффекты, ассоциированные с приемом диеногеста, аналогичны действиям прогестагена – увеличение веса, повышение артериального давления, чувствительность груди и тошнота. Диеногест не вызывает андрогенных побочных эффектов и мало влияет на метаболические и липидные параметры [206]. Безопасность и переносимость диеногеста оценена в четырех европейских РКИ [55, 275]. Диеногест в дозировке 2 мг показал хорошую переносимость за период наблюдения более 65 недель у 332 пациенток с эндометриозом. Наиболее распространенными побочными эффектами были головные боли легкой/умеренной степени, дискомфорт в груди, депрессивное настроение и акне. Каждый побочный эффект отмечался у <10% пациенток, однако показатель прекращения приема препарата был низким. Только 0,6% пациенток сообщили о случаях кровотечения в качестве первой причины преждевременного прекращения приема препарата. По сравнению с терапией аГнРГ у пациенток, получавших диеногест, уровень эстрадиола находился в пределах низкого физиологического диапазона, подтверждая терапевтическую эффективность и не вызывая гипоестрогении [275].

При назначении терапии прогестинами необходимо обсуждать с пациентками возможные побочные эффекты этих препаратов, а также регулярно контролировать состояние пациентки [1, 7, 9, 10, 14, 16, 17, 24].

К ГТ второй линии относятся агонисты гонадотропин-рилизинг гормона (аГнРГ), которые могут назначаться внутримышечно, подкожно и интраназально [55]. Ацетат лейпролида (парентеральный), ацетат нафарелина (интраназальный), ацетат гозерелина (подкожный имплантат) и трипторелин являются наиболее



часто используемыми соединениями. Они производятся путем замещения D-аминокислоты на L-аминокислоту в положении 6 в нативном ГнРГ. Это замещение приводит к появлению агониста, стойкого к деградации эндопептидазами и имеющему более длительный период полувыведения [55].

С началом лечения в течение первых нескольких дней возникает эффект «вспышки гипофиза», который развивается в результате связывания с гипофизарным рецептором ГнРГ. Это, в свою очередь, провоцирует секрецию лютеинизирующего гормона и фолликулостимулирующего гормона гипофизом [45]. Поскольку первоначальный эффект «вспышки гипофиза» может усугубить симптомы эндометриоза, его следует избегать, если это возможно. Проявления этого эффекта можно ослабить или предотвратить путем назначения ингибиторов ароматазы в течение первых 7-10 дней терапии. В качестве альтернативного метода начальная инъекция может быть сделана в лютеиновую фазу цикла [45]. Длительное лечение аГнРГ приводит к снижению экспрессии гипофизарного рецептора ГнРГ с последующим снижением секреции лютеинизирующего гормона и фолликулостимулирующего гормона гипофизом. Это, в свою очередь, подавляет рост фолликулов в яичниках и овуляцию, что приводит к значительному снижению уровней циркулирующих эстрадиола и прогестерона. В течение 1 месяца приема аГнРГ концентрация циркулирующего эстрадиола в крови снижается до менопаузального уровня.

Подобно диеногесту агонисты ГнРГ могут оказывать прямое воздействие на эутопический эндометрий и эндометриозидные очаги. Изучение линий культивированных клеток ЭКЯ показало, что высокая концентрация лейпролида (1000 нг/мл) приводит к ингибированию клеточного роста [67] и индуцированию апоптоза эндометриальных эпителиальных клеток [143].

При исследовании влияния аГнРГ на эндометриоз-ассоциированные симптомы большинство клинических испытаний [31, 156, 208, 296] показали хорошие результаты, а снижение тазовой боли находилось в диапазоне от 50% до 90%. РКИ [144] показало, что аГнРГ превосходят плацебо и так же эффективны,

как и другие медикаментозные методы лечения боли и снижения прогрессирования эндометриoidных имплантов. Только одно исследование [31] сравнило аГнРГ с ингибиторами ароматазы. По данным этого исследования [31], не наблюдалось различий в частоте рецидивирования эндометриоза и частоте наступления беременности у 144 пациенток с хирургически подтвержденным эндометриозом, которые получали трипторелин, летрозол или не имели ГТ. По данным другого исследования [75], в котором сравнивались терапия аГнРГ, лапароскопическое оперативное лечение и комбинированное медикаментозное/хирургическое лечение, самая низкая частота рецидивирования и максимальная скорость излечения наблюдались в группе комбинированного медикаментозного/хирургического лечения.

В качестве ГТ второй линии так же могут использоваться левоноргестрел-содержащая внутриматочная система, парентеральные КОК, такие как трансдермальные пластыри и вагинальные кольца, а также депо-формы прогестинов [3, 4, 6, 9, 10, 14, 17, 26].

Супрессия продукции эндогенных эстрогенов является важным компонентом в лечении эндометриоз-ассоциированной тазовой боли [55]. Прекращение гормональной супрессивной терапии обычно приводит к рецидивированию болевых симптомов в связи с возвращением к гормональной стимуляции эндометриoidных имплантов [55]. Следует помнить, что гормональное лечение до хирургического лечения может «замаскировать» эндометриoidные гетеротопии и, следовательно, снизить эффективность последующего хирургического лечения эндометриоза [3, 7, 10, 16].

На сегодняшний день лапароскопическое оперативное лечение эндометриоза является наиболее эффективной терапией первой линии в лечении болевого синдрома и восстановлении репродуктивной функции. Согласно мнению Л.В. Адамян, хирургическое лечение с последующим гистологическим подтверждением предполагает не только окончательную постановку диагноза и удаление эндометриoidных гетеротопий, но и определение дальнейшей тактики

ведения пациенток с эндометриозом [1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 16, 17, 20, 21, 22, 24, 27].

Частота рецидивирования эндометриоза после хирургического лечения составляет 45-55% за период наблюдения 5 лет [55]. У молодых женщин в возрасте до 21 года частота рецидивирования эндометриоза еще выше – 56% [153]. В проведенном РКИ [72] пациентки с эндометриозом были разделены на 3 группы: группа пациенток с лапароскопическим оперативным лечением эндометриоза без ГТ и группы с комбинированным лечением – лапароскопия+один из двух аГнРГ (лейпролид ацетат или гозерелин). Статистически значимо более высокая частота рецидивирования в течение 1 года наблюдения выявлена в группе пациенток с лапароскопическим оперативным лечением без ГТ (33%) по сравнению с группой «лапароскопическое оперативное лечение+лейпролид ацетат» (13%) и группой «лапароскопическое оперативное лечение+гозерелин» (12%). Спустя 2 года беременность наступила в группе «лапароскопическое оперативное лечение+лейпролид ацетат» в 62%, в группе «лапароскопическое оперативное лечение +гозерелин» в 60% и в группе «лапароскопическое оперативное лечение без ГТ» только в 39%, однако полученная разница не была статистически значимой. Таким образом, самый низкий уровень рецидивирования и максимальная скорость излечения наблюдались в группе комбинированного хирургического/медикаментозного лечения [72].

Выбор препарата и длительность ГТ в послеоперационном периоде зависят, прежде всего, от симптомов и стадии распространения эндометриоза по данным лапароскопического исследования, а также от возраста и репродуктивных планов пациентки [1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 16, 17, 20, 21, 22, 24].

В качестве ГТ первой линии в послеоперационном периоде используются прогестины. Согласно рандомизированному многоцентровому исследованию [95], диеногест, так же как и аГнРГ, уже через 6 месяцев приема в непрерывном режиме эффективно купирует эндометриоз-ассоциированный болевой синдром.

Терапия аГнРГ позволяет восстановить репродуктивную функцию, улучшает результаты оперативного лечения и качество жизни пациенток [3, 4, 6, 9]. После отмены терапии аГнРГ возникает «ребаунд-эффект» – активация гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы, что приводит к стимуляции овуляции и резкому увеличению вероятности наступления беременности. По данным проведенных исследований [18, 26, 27, 173], назначение аГнРГ в течение 3-6 месяцев перед проведением процедуры ВРТ существенно повышает шанс наступления беременности.

В послеоперационном периоде КОК целесообразно назначать в непрерывном режиме, что предотвращает стимулирующее воздействие высоких пиков концентрации эстрогенов эстрогенового компонента КОК на развитие эндометриоза. Проведенные РКИ [203, 243] продемонстрировали, что прием КОК в послеоперационном периоде сокращает частоту рецидивирования, однако статистически значимых различий между группой пациенток с досрочным прекращением приема КОК (6 месяцев терапии после операции) и группой пациенток без ГТ не выявлено. По данным другого исследования [255], при досрочном прекращении после операции приема КОК частота рецидивирования ЭКЯ составляет 55,5% за период наблюдения 5 лет. Поэтому возникает необходимость долгосрочной медикаментозной терапии после оперативного лечения для профилактики рецидивирования эндометриоза.

Таким образом, на сегодняшний день наиболее эффективной схемой ГТ эндометриоза в послеоперационном периоде считается назначение аГнРГ с длительным приемом диеногеста или назначение низкодозированных КОК в пролонгированном режиме.

#### **1.4 Факторы риска рецидивирования наружного генитального эндометриоза**

Поскольку распространенность эндометриоза может различаться в зависимости от когорты женщин, частота рецидивирования также зависит от

исследуемой группы, определяемой характеристикой рецидива, размером выборки, продолжительностью наблюдения, радикальностью проведенной операции, опытом хирурга и послеоперационной тактикой ведения. Более того, особенности периода наблюдения имеют очень важное значение: одни авторы пишут об общей частоте рецидивирования эндометриоза, в то время как другие сообщают о длительности безрецидивного периода. Определение рецидива эндометриоза также различается у разных авторов.

Рецидивом эндометриоза считается повторное появление болевого синдрома, продолжающееся бесплодие или повторная визуализация очагов эндометриоза/ЭКЯ при УЗИ или хирургическом вмешательстве [62, 289]. В итоге, общая частота рецидивирования по данным разных исследований колеблется от 6 до 67% в соответствии с критериями, которые принимались во внимание. Это явно свидетельствует о гетерогенности имеющихся результатов [62, 289].

Следует отметить, что очень небольшое количество исследований дает информацию о частоте рецидивирования эндометриоза за период наблюдения более чем 5 лет после оперативного вмешательства. Частота рецидивирования также уменьшается при увеличении когорты исследуемых женщин. По данным ряда исследований [55, 146, 236, 255, 257, 269], частота рецидивирования ЭКЯ увеличивается приблизительно на 10% в год и составляет более 50% за период наблюдения 5 лет после оперативного лечения.

Частота рецидивирования болевого синдрома за период наблюдения 3 и 5 лет после оперативного вмешательства составляет 20,5% и 43,5% соответственно [62, 289]. Однако частота клинического рецидивирования глубокого инфильтративного эндометриоза за этот период наблюдения составляет 9% и 28% соответственно [62, 289]. С. Ехасoustos и соавт. [253] охарактеризовали термин рецидивирование как повторное появление кисты диаметром более чем 10 мм и определили, что 76% пациенток с болевым синдромом имеют рецидив эндометриоза. Эти результаты [62] показывают, что частота рецидивирования болевого синдрома и других эндометриоз-ассоциированных симптомов выше, чем

реальная клиническая частота рецидивирования эндометриоза, определяемая как наличие визуализируемых признаков, например, таких как ЭКЯ.

Место локализации эндометриоидных очагов также может влиять на риск рецидивирования. М. Busacca и соавт. [62, 90] исследовали 144 случая рецидива эндометриоза и определили, что частота рецидивирования за период наблюдения 4 года после оперативного лечения составляет 24,6%, 17,8%, 30,6%, 23,7% для ЭКЯ, перитонеального эндометриоза, глубокого инфильтративного эндометриоза и перитонеального инфильтративного эндометриоза соответственно. По данным этого исследования [62, 256], частота рецидивирования увеличивается со временем, прошедшим после оперативного лечения: частота рецидивирования за период наблюдения 8 лет после оперативного лечения составляет 42%, 24,1%, 43,4% и 30,9% соответственно.

Существует множество клинических и хирургических факторов, которые могут быть связаны с высоким риском рецидивирования эндометриоза. Однако для прогнозирования рецидивирования во всех подгруппах пациенток данных недостаточно. В одном из крупнейших исследований рецидивирования эндометриоза X. Liu и соавт. [237] наблюдали 710 пациенток в течение 22,4 месяцев после оперативного лечения. Авторы охарактеризовали термин рецидив эндометриоза либо как наличие ЭКЯ в течение более чем двух последовательных менструальных циклов, либо как рецидив тазовой боли. В данном исследовании [237] определено, что факторами риска рецидивирования ЭКЯ являются наличие оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе, медикаментозное лечение до операции, молодой возраст и общий балл по классификации ASRM 1996 г. По данным другого исследования X. Liu и соавт. [236], частота рецидивирования эндометриоза, как правило, стабильно увеличивается в течение 28-30 месяцев после оперативного лечения и уменьшается по истечении этого периода. По данным других подобных исследований [62, 204, 205, 219], возраст менархе, паритет, предшествующее медикаментозное лечение эндометриоза, возраст во время операции, ИМТ, размер наибольшей кисты при операции,

сопутствующее наличие миомы матки не оказывали существенного влияния на риск рецидивирования эндометриоза. F.Parazzini и соавт. [62, 91] определили, что частота рецидивирования за период наблюдения 2 года после операции для эндометриоза I и II стадии составляет 5,7%, для эндометриоза III и IV стадии – 14,3%.

Отмечалось, что не только тяжесть течения эндометриоза, но и объем операции могут повлиять на риск рецидивирования этого заболевания [62, 204]. По данным M.Vignali и соавт. [62, 289], полноценность первичного хирургического вмешательства является прогностическим фактором рецидивирования для глубокого инфильтративного эндометриоза. В то же время, по данным I.Tandoil и соавт. [62, 153], не выявлено факторов риска рецидивирования эндометриоза среди подростков.

Почти все эти исследования [241, 242, 247, 255, 261, 295] сосредоточены на изучении эпидемиологических факторов и интраоперационных данных, а их результаты часто противоречат друг другу. Факторы риска, как правило, достаточно хорошо характеризуют подгруппу пациенток с высоким риском рецидивирования заболевания на уровне популяции, однако их точность часто имеет ограниченное значение на индивидуальном уровне. Поэтому биомаркеры, определяемые в тканевых образцах, могут стать надежными предикторами рецидивирования эндометриоза и иметь большое практическое значение, так как позволят сразу после оперативного лечения определять пациенток с высоким риском рецидивирования данного заболевания. В недавно опубликованных исследованиях [82, 172, 175, 268] найдены возможные биомаркеры рецидивирования ЭКЯ, однако результаты этих исследований неокончательны.

#### Механизмы рецидивирования наружного генитального эндометриоза.

Существует несколько исследований, целью которых являлось изучение механизмов рецидивирования эндометриоза. Теоретически рецидивирование эндометриозных очагов может происходить либо из оставшихся эндометриозных очагов, либо de novo из клеток эутопического эндометрия,

попавших в брюшную полость вследствие ретроградного заброса менструального эндометрия.

Первую теорию подтверждает тот факт, что частота рецидивирования возрастает, если во время первичной операции эндометриодные поражения были удалены не полностью, а также факт повторного возникновения эндометриодных очагов, как правило, в той же локализации [62]. По данным систематического обзора [106, 290], основанного на 49 исследованиях, оценивающих оптимальный хирургический подход при колоректальном эндометриозе, общая частота рецидивирования оказалась ниже в группе пациенток с резекцией кишечника (5,8%) по сравнению с группой пациенток с поверхностным иссечением эндометриодных очагов (17,6%). Сообщалось также, что за период наблюдения 2 года после оперативного лечения радикальная гистерэктомия оказалась более эффективной по сравнению со стандартной экстрафасциальной гистерэктомией с частотой рецидивирования тазовой боли 0% и 30,8% соответственно [62, 291]. После абляции эндометрия или гистерэктомии с двухсторонней оофорэктомией симптомы по-прежнему возвращаются у 10% пациенток [62]. Эти данные подтверждают теорию о том, что остаточные эндометриодные гетеротопии могут являться основной причиной рецидивирования эндометриоза.

Теория образования эндометриодных очагов *de novo* также имеет подтверждение. По данным проведенных исследований [62, 236], риск рецидивирования эндометриоза значительно более высокий в течение первых 2-х лет после оперативного лечения, несмотря на то, что перитонеальные эндометриодные поражения были полностью устранены во время операции. Кроме того, при глубоком инфильтративном эндометриозе часто определяется лимфоваскулярная инвазия, которая имеет значительную корреляцию с размером первичных эндометриодных очагов [62]. У женщин с эндометриозом в перитонеальной жидкости и периферической крови определена более высокая концентрация CD15a-положительных естественных клеток-киллеров, которая не



снижается после хирургического или медикаментозного лечения и поддерживает воспалительную среду для развития рецидива эндометриоза [62].

Рецидив ЭКЯ и повторное хирургическое вмешательство могут усилить проявления болевого синдрома и снизить фертильность, еще больше снижая качество жизни больных женщин [261, 295]. Поэтому очень важно предотвратить рецидив ЭКЯ после первичного оперативного лечения [241, 242, 247].

Для предотвращения рецидивирования ЭКЯ может быть использована послеоперационная ГТ, однако ее эффективность ограничена [241, 244]. Разработка эффективных методик прогнозирования рецидивирования ЭКЯ позволит определить более четкие показания для назначения различных видов медикаментозной терапии в послеоперационном периоде. Кроме того, такая стратификация пациенток позволит оптимизировать биобанкирование ооцитов у пациенток с ЭКЯ [268]. Поэтому определение и идентификация факторов риска рецидивирования ЭКЯ важны для повышения эффективности послеоперационной терапии и индивидуализации ведения пациенток в послеоперационном периоде [288].

Молекулярные предикторы рецидивирования наружного генитального эндометриоза. Определение факторов риска рецидивирования эндометриоза может способствовать формированию подгруппы пациенток, имеющих высокий риск рецидивирования заболевания и нуждающихся в дальнейшем его контроле. Исследовать и искать новые биомаркеры рецидивирования эндометриоза необходимо на основании изучения патофизиологии этого заболевания.

Поскольку эндометриоз является эстроген-зависимым заболеванием, первый кандидат в биомаркеры связан с механизмом стероидного синтеза. Как говорилось выше, существует два типа эстрогеновых рецепторов, а именно ER- $\alpha$  и ER- $\beta$ , которые кодируются разными генами – *ESR1* и *ESR2* соответственно. ERs состоят из E-связывающего и ДНК-связывающего доменов. После связывания с лигандами эти рецепторы действуют как транскрипционные факторы, которые

повышают или понижают генную экспрессию путем взаимодействия с регуляторными областями генов-мишеней [62, 122]. S.Luisi и соавт. [62, 122] исследовали возможную корреляцию между полиморфизмами генов ERs и клиническими и прогностическими индексами рецидивирования эндометриоза. У 61 пациентки с рецидивирующим течением эндометриоза полиморфизмы ER- $\alpha$  Pvu II имели частоту генотипов PP, Pp и pp – 54%, 46% и 0% соответственно [62, 122].

Ядерный фактор «каппа-би» (NF- $\kappa$ B) является димерным фактором транскрипции, который способствует экспрессии более 150 генов, вовлеченных в клеточные процессы иммунного ответа, воспалительный процесс, клеточную адгезию, ангиогенез, пролиферацию и апоптоз [62, 145]. NF- $\kappa$ B является ключевым транскрипционным фактором в регуляции экспрессии RANTES, которые индуцируют провоспалительные цитокины и хемокины [260].

NF- $\kappa$ B проявляет активность только в димерной форме (возможно образование как гетеродимеров, так и гомодимеров), причем наиболее распространенные формы – димеры субъединиц p50 или p52 с субъединицей p65.

COX-2 является ферментом, влияющим на скорость простагландинового синтеза, и играет важную роль в воспалительных процессах и пролиферации при эндометриозе [62, 82]. Естественно, что факторы, регулирующие простагландиновый синтез, становятся потенциальными кандидатами для прогнозирования рецидивирования эндометриоза после хирургического лечения.

Данные проведенных исследований [82, 172, 175, 268] относительно иммунореактивности NF- $\kappa$ B p65 и COX-2 у пациенток с рецидивирующим течением ЭКЯ показали неокончательные результаты.

Таким образом, в клинической практике до сих пор отсутствует применение данных молекулярных предикторов, что говорит о необходимости проведения дальнейших исследований по поиску предикторов рецидивирования эндометриоза.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН, д.м.н., профессор Г.Т. Сухих). Набор пациенток осуществлялся в гинекологическом отделении отдела оперативной гинекологии и общей хирургии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – академик РАН, д.м.н., профессор Л.В. Адамян). Молекулярно-генетическое исследование проводилось в лаборатории молекулярно-генетических методов отдела клинической и молекулярной генетики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – д.б.н., профессор РАН Д.Ю. Трофимов). Патоморфологическое исследование проводилось в 1-ом патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – д.м.н., профессор А.И. Щеголев). Перед включением в исследование все пациентки ознакомились, датировали и подписали информированное согласие в 2-х экземплярах. Исследование одобрено комиссией по этике ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Для решения поставленных задач все исследуемые пациентки были разделены на следующие группы: I группа – 188 пациенток с гистологически подтвержденным диагнозом НГЭ; II группа – 80 пациенток без эндометриоза (группа сравнения). Группу сравнения составили пациентки, прооперированные по поводу спаечного процесса (32,5%, n=26), миомы матки (52,5%, n=42) или неполной внутриматочной перегородки (15,0%, n=12) и у которых по данным УЗИ органов малого таза и лапароскопического исследования не было выявлено эндометриоза, а также не было оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе.

На первом этапе исследования всем пациенткам проведено полное клинико-анамнестическое обследование: сбор анамнеза, общий и гинекологический осмотр, клинико-лабораторное обследование, УЗИ органов малого таза.

На втором этапе исследования всем пациенткам проведено эндоскопическое оперативное лечение. Эндоскопическую операцию проводили по стандартизированной методике с помощью эндовидеохирургического оборудования фирмы «Karl Storz» (Германия). Все пациентки прооперированы лапароскопическим доступом в условиях эндотрахеального наркоза по стандартной закрытой методике в положении Тренделенбурга. Во время лапароскопии проводили тщательный осмотр брюшной полости и органов малого таза. Диагноз НГЭ устанавливали при обнаружении кист яичников с характерным «шоколадным» содержимым и/или эндометриoidных гетеротопий и последующем подтверждении диагноза при гистологическом исследовании. С целью уточнения характера внутриматочной патологии всем пациенткам проводили диагностическую жидкостную гистероскопию. Гистероскопия у всех пациенток сочеталась с биопсией или диагностическим выскабливанием эндометрия и последующим гистологическим исследованием полученного материала. Стадию распространения эндометриоза определяли по пересмотренной в 1996 г. классификации Американского общества репродуктивной медицины (ASRM).

Сбор образцов периферической крови проводился перед операцией до введения наркотических веществ. Сбор образцов эндометриального эндометрия проводился при помощи аспирационной биопсии с использованием кюретки Pipelle de Cornie во время операции до проведения гистероскопического исследования с последующим выскабливанием эндометрия и гистологическим исследованием полученного материала. Образцы крови и эндометриального эндометрия отправлялись в лабораторию по сбору и хранению биоматериалов ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – к.м.н. С.М. Муллабаева) и замораживались при  $-70^{\circ}\text{C}$  для последующего хранения в коллекции.

В послеоперационном периоде ряду пациенток рекомендовали различные варианты ГТ. Медикаментозную терапию проводили дифференцированно, в

зависимости от возраста, жалоб, желаний реализовать репродуктивную функцию и состояния репродуктивной системы, локализации и стадии распространения эндометриоза.

На третьем этапе исследования у пациенток с ЭКЯ оценивали эффективность проведенного лечения при клинико-инструментальном обследовании в течение 1,5 лет с интервалом в 6 месяцев. Оценивали динамику жалоб и восстановление репродуктивной функции, проводили общий и гинекологический осмотр, УЗИ органов малого таза. Этот этап исследования включал оценку данных клинико-эндоскопического обследования, патоморфологического и молекулярно-генетических методов исследования.

## 2.1 Дизайн исследования

Дизайн исследования для задачи №1. Исследовать отдаленные результаты хирургического лечения, частоту и клинические факторы риска рецидивирования эндометриоидных кист яичников у пациенток репродуктивного возраста.

Одномоментное исследование в параллельных группах для оценки эффективности гормональной терапии, частоты и факторов риска рецидивирования ЭКЯ (Рисунок 2).



Рисунок 2. Дизайн исследования для задачи №1.

В зависимости от вида получаемой в послеоперационном периоде ГТ пациентки с ЭКЯ (n=118) были разделены на сопоставимые по клинико-анамнестической характеристике группы:

I группа – 61 пациентка, не получавшая ГТ в послеоперационном периоде. Причиной отсутствия ГТ в послеоперационном периоде у большинства пациенток было желание реализовать репродуктивную функцию и планирование беременности;

II группа – 39 пациенток, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев после оперативного лечения;

III группа – 18 пациенток, получавших диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме в течение 12 месяцев после оперативного лечения.

Оценку эффективности проведенного лечения осуществляли у пациенток с ЭКЯ (n=118) в поликлиническом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России через 1, 6, 12 и 18 месяцев после оперативного вмешательства согласно следующим критериям:

1. Анализ жалоб (наличие/отсутствие болевого синдрома, наличие/отсутствие нарушений менструальной функции);
2. Анализ репродуктивной функции;
3. Данные гинекологического обследования (размер, форма, консистенция и болезненность матки, наличие объемных образований тугоэластической консистенции в области придатков матки и их болезненность, наличие болезненных инфильтратов в малом тазу);
4. Данные УЗИ и/или МРТ органов малого таза.

На следующем этапе исследования для опеределения факторов риска рецидивирования ЭКЯ пациентки с ЭКЯ (n=100) были разделены на 2 группы:

I группа – пациентки с ЭКЯ, не имеющие рецидива ЭКЯ в течение 1,5 года после оперативного лечения (81 пациентка);

II группа – пациентки с ЭКЯ, у которых через 1,5 года после оперативного лечения выявлен рецидив ЭКЯ (19 пациенток).

Пациентки, получающие диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме в течение 12 месяцев после оперативного лечения (n=18), были исключены из исследования по определению факторов риска рецидивирования ЭКЯ. Наличие рецидива ЭКЯ определялось по данным УЗИ и/или МРТ органов малого таза.

Дизайн исследования для задачи №2. Изучить генетические факторы риска (rs4703908:G>C, rs10859871:A>C, rs10965235:C>A) развития различных форм наружного генитального эндометриоза (эндометриоидные кисты яичников, глубокий инфильтративный эндометриоз и эндометриоз брюшины малого таза).

Одномоментное исследование в параллельных группах (Рисунок 3).



Рисунок 3. Дизайн исследования для задачи №2.

Группы пациенток: I группа – 188 пациенток с различными формами НГЭ (80 пациенток с ЭКЯ, 73 пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом и 35 пациенток с эндометриозом брюшины малого таза); II группа – 80 пациенток без эндометриоза.

Дизайн исследования для задачи №3. Исследовать частоту и структуру патологических изменений в эндометрии пациенток с наружным генитальным эндометриозом.

Одномоментное исследование в параллельных группах (Рисунок 4).



Рисунок 4. Дизайн исследования для задачи №3.

Группы пациенток: I группа – 188 пациенток с НГЭ; II группа – 80 пациенток без эндометриоза.

Дизайн исследования для задачи №4. Исследовать транскриптом эндометрия пациенток с наружным генитальным эндометриозом с помощью микроматриц (mRNA microarray analysis) и определить возможность использования кандидатных генов в качестве биомаркеров для малоинвазивной диагностики с помощью количественной ОТ-ПЦР.

Одномоментное исследование в параллельных группах (Рисунок 5).

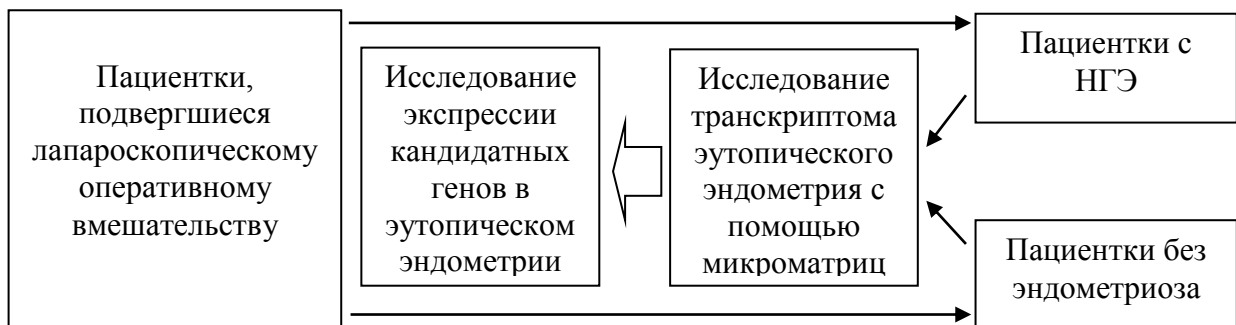


Рисунок 5. Дизайн исследования для задачи №4.

Группы пациенток для транскриптомного исследования эндометрия: I группа – 7 пациенток с НГЭ; II группа – 7 пациенток без эндометриоза.

На следующем этапе проведен анализ уровней мРНК кандидатных генов при помощи количественной ОТ-ПЦР на большей популяции женщин: I группа – 71 пациентка с НГЭ; II группа – 46 пациенток без эндометриоза.

Дизайн исследования для задачи №5. Исследовать экспрессию факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF-k $\beta$  p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенин), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в эндометрии и капсуле эндометриоидных кист яичников иммуногистохимическим методом и определить возможность их использования в качестве предикторов рецидивирования эндометриоидных кист яичников.

Одномоментное исследование в параллельных группах (Рисунок 6).



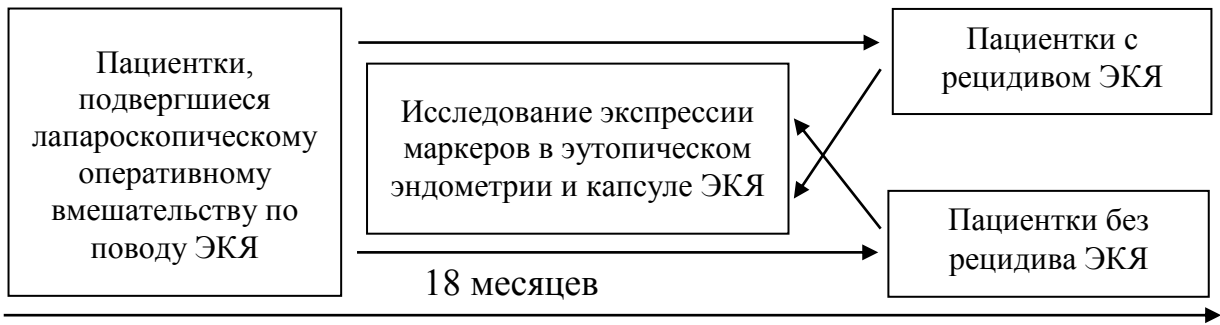


Рисунок 6. Дизайн исследования для задачи №5.

Группы пациенток: I группа – пациентки с ЭКЯ, не имеющие рецидива ЭКЯ в течение 1,5 года после оперативного лечения (41 пациентка); II группа – пациентки с ЭКЯ, у которых через 1,5 года после оперативного лечения выявлен рецидив ЭКЯ (19 пациенток).

## 2.2 Критерии включения и исключения

Критерии включения: репродуктивный возраст (18-45 лет); НГЭ (ЭКЯ, глубокий инфильтративный эндометриоз, эндометриоз брюшины малого таза), выявленный при лапароскопическом оперативном вмешательстве и подтвержденный при последующем гистологическом исследовании; отсутствие эндометриоза, подтвержденное при УЗИ органов малого таза и лапароскопическом оперативном вмешательстве, и отсутствие операций по поводу эндометриоза в анамнезе; подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Для задач №4, 5 критериями включения также было отсутствие ГТ в течение 6 месяцев до оперативного вмешательства.

Критерии исключения: тяжелая сопутствующая экстрагенитальная патология; злокачественные новообразования половых органов; острые воспалительные заболевания органов малого таза; пороки развития половых органов с нарушением оттока менструальной крови; наличие заболеваний, являющихся противопоказанием для оперативного лечения.

## 2.3 Методы исследования

### 2.3.1 Общеклинические методы исследования

Общеклиническое обследование пациенток включало анализ жалоб, углубленное изучение анамнестических данных, общий и гинекологический осмотр.

При изучении истории настоящего заболевания оценивали предъявляемые жалобы, время их возникновения, длительность, особенности течения, проводимое ранее лечение (оперативное, консервативное) и его эффективность.

Проведено углубленное изучение анамнестических данных. При сборе анамнеза уделяли внимание наследственности, образу жизни (курение, употребление алкоголя, воздействие вредных факторов окружающей среды, стрессовые состояния), перенесенным инфекционным, соматическим и гинекологическим заболеваниям, оперативным вмешательствам, травмам, изучали аллергоанамнез.

Подробно исследовали менструальную функцию включенных в исследование пациенток: возраст менархе, регулярность менструального цикла, продолжительность и характер менструаций, наличие кровяных и/или «мажущих» выделений перед и после менструации. Изучали характер половой функции: возраст начала половой жизни, количество половых партнеров, используемые методы контрацепции. Собирали информацию о репродуктивной функции пациенток: количество беременностей, способ их достижения (самостоятельная, индуцированная), течение беременностей, исходы, особенности родов, наличие/отсутствие послеродовых осложнений. Подробно изучали перенесенные в прошлом гинекологические заболевания и оперативные вмешательства на органах малого таза.

Общее клиническое обследование включало: объективное исследование (характер телосложения, рост и вес, состояние кожных покровов и слизистых

оболочек, развитие жировой ткани, характер и степень оволосения гормонзависимых зон), оценку состояния дыхательной, сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочевыделительной и эндокринной систем.

При гинекологическом исследовании оценивали развитие наружных половых органов, характер и степень оволосения, состояние кожных покровов и слизистых оболочек, проводили исследование влагалища и шейки матки при помощи зеркал, бимануальное влагалищно-абдоминальное и/или ректовагинальное исследования, осмотр и пальпацию молочных желез. При бимануальном влагалищно-абдоминальном исследовании определяли положение, подвижность, размер, форму, консистенцию и болезненность матки, наличие объемных образований в области придатков матки и их болезненность, наличие болезненных инфильтратов в малом тазу и выраженность спаечного процесса.

### **2.3.2 Лабораторные методы исследования**

Основные лабораторные методы обследования включали: общий анализ крови, биохимический анализ крови, гемостазиограмму, определение группы и Rh-фактора крови, общий анализ мочи, по показаниям – исследование гормонального профиля. Всем пациенткам проводили тесты для исключения особо опасных инфекций: сифилиса, вируса иммунодефицита человека, вирусов гепатита В и С. Всем больным проводили микроскопическое исследование отделяемого из уретры, цервикального канала и влагалища, PAP-тест шейки матки. В обязательном порядке перед оперативным лечением всем пациенткам была выполнена электрокардиограмма и рентгенологическое исследование органов грудной клетки. По показаниям проводили УЗИ сердца и органов брюшной полости.

Все пациентки были консультированы терапевтом и анестезиологом. При необходимости осуществлялась консультация другими специалистами (кардиологом, эндокринологом, нефрологом).

### 2.3.3 Инструментальные методы исследования

Инструментальные методы исследования включали: ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза, магнитно-резонансную томографию (МРТ) и кольпоскопию.

Ультразвуковое исследование органов малого таза проводили в отделении ультразвуковой и функциональной диагностики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – д.м.н., профессор А.И. Гус). Исследование проводили на аппарате «Aloka-SSD 5000» (Япония), использовали высокочувствительный трансвагинальный датчик с частотой 7,0 МГц. При УЗИ в процессе исследования серией продольных, поперечных и косых сканирований в режиме реального времени определяли: положение, размеры, анатомическую форму и структуру матки, толщину эндометрия, размеры и структуру яичников. При необходимости проводили УЗИ других органов (щитовидной железы, печени, желчного пузыря, почек).

Магнитно-резонансную томографию проводили в отделении лучевой диагностики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – к.м.н. В.Г. Быченко). Исследование проводили на МР-томографе «Magnetom Harmony» фирмы Siemens (Германия) с напряженностью поля 1 Тесла и резонансной частотой для протонов 42 МГц по стандартной методике. Перед проведением исследования была рекомендована легкая диета без приема продуктов, усиливающих перистальтику кишечника и газообразование, чтобы предотвратить и/или свести к минимуму двигательные наводки, возникающие при повышенном тоне кишечника.

При наличии показаний проводили простую и/или расширенную кольпоскопию по стандартной методике с помощью кольпоскопа «OCS-3» (Olympus Optical Co, Япония).

### 2.3.4 Диагностические и оперативные эндоскопические методы исследования

Хирургическое вмешательство проводили в гинекологическом отделении отдела оперативной гинекологии и общей хирургии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – академик РАН, д.м.н., профессор Л.В. Адамян) в условиях эндотрахеального наркоза по стандартной закрытой методике. В предоперационном периоде все пациентки получали полную информацию о необходимости и целесообразности проведения хирургического лечения, объеме и доступе операции, возможных интра- и послеоперационных осложнениях. Все пациентки давали письменное информированное согласие на проведение оперативного вмешательства.

Жидкостная гистероскопия. Данный метод позволяет изучить состояние полости матки и исключить наличие внутриматочной патологии.

Для проведения гистероскопии использовали жесткие диагностические гистероскопы типа Hopkins II (Karl Storz GmbH & Co., Германия) с наружным диаметром 5 мм. В качестве среды растяжения полости матки использовали стерильный 0,9% раствор хлорида натрия или 5% раствор глюкозы (при проведении гистерорезектоскопии), который подавали с помощью помпы Hamou Endomat (Karl Storz GmbH & Co., Германия). Гистероскопия у всех пациенток сочеталась с биопсией или диагностическим выскабливанием эндометрия и последующим гистологическим исследованием полученного материала.

При резектоскопии использовали гистерорезектоскоп (Karl Storz GmbH & Co., Германия) с наружным диаметром 8 мм и оптикой 0 или 12 градусов. Для рассечения перегородки использовали монополярный ток мощностью 60 Вт в режущем режиме.

Лапароскопия. Лапароскопию выполняли в условиях эндотрахеального наркоза по стандартной закрытой методике в положении Тренделенбурга.

Оперативное вмешательство проводили в специально оборудованной операционной. После опорожнения мочевого пузыря при горизонтальном

положении пациентки на спине (в литотомическом положении) через разрез в области пупка в брюшную полость вводили иглу Вереша и с помощью инфлятора Endoflator (Karl Storz GmbH & Co., Германия) осуществляли наложение пневмоперитонеума с давлением в 12 мм рт.ст. Для создания пневмоперитонеума применяли углекислый газ. После наложения пневмоперитонеума через тот же разрез вводили троакар диаметром 11 мм (Karl Storz GmbH & Co., Германия). После извлечения стилета в гильзу троакара вводили лапароскоп Hopkins II (0°) (Karl Storz GmbH & Co., Германия), который соединялся с источником света и эндовидеокамерой. Пациентку переводили в положение Тренделенбурга (10-30°). Для вторичных проколов брюшной стенки использовали 5 и 10 мм троакары (Apple Medical Corp., США, ООО Апекс Мед, Россия или Karl 58 Storz GmbH & Co., Германия). В работе использовали оборудование и инструменты фирмы «Karl Storz» (Германия). Для выполнения эндоскопической операции использовали 5 и 10 мм механические инструменты: щипцы – биопсийные, зубчатые, атравматичные; ножницы – прямые, изогнутые; иглодержатели; а также инструменты для монополярной и биполярной коагуляции.

Во время лапароскопии проводили тщательный осмотр брюшной полости и органов малого таза. Осмотр малого таза проводили в следующем порядке: осматривали матку, при этом оценивали ее положение, подвижность, размеры, форму, окраску и консистенцию, затем осматривали брюшину переднематочного и позадиматочного пространства, при этом оценивали состояние брюшины, наличие и характеристики эндометриoidных очагов (локализация, количество, размеры и цвет) и после этого с помощью манипуляторов осматривали маточные трубы и яичники. При осмотре яичников особое внимание уделялось размерам ЭКЯ и степени выраженности фолликулярного аппарата. Также оценивали наличие спаечного процесса и степень вовлечения в спаечный процесс матки, придатков, соседних органов (мочевого пузыря, кишечника, сальника).

Резекцию яичника (вылущивание капсулы ЭКЯ) проводили в пределах здоровых тканей, ложе кисты коагулировали биполярным коагулятором. Капсулу кисты удаляли абластично в пластиковом контейнере через троакарное отверстие. Очаги эндометриоза иссекали и/или коагулировали при помощи ножниц и/или биполярного коагулятора. По окончании операции брюшную полость промывали 0,9% раствором хлорида натрия. Окончательный контроль гемостаза осуществляли в положении Тренделенбурга после заполнения полости малого таза 0,9% раствором хлорида натрия. Все кровоточащие участки, легко визуализирующиеся в жидкой среде, коагулировали биполярным коагулятором.

### **2.3.5 Патоморфологическое исследование**

Патоморфологическое исследование проводили в 1-патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – д.м.н., профессор А.И. Щеголев). Использовали оборудование: микроскоп с высокой разрешающей способностью марки OLIMPUS и цифровой фотоаппарат марки OLIMPUS 501.

Морфологическое исследование проводили по стандартной методике. В работе использовали гистологический и иммуногистохимический методы исследования. После фиксации в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов и стандартного протокола гистологической проводки материал заливали в парафин. Далее серийные срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование гистологических препаратов проводили на световом микроскопе при увеличении от x50 до x400.

Иммуногистохимическое исследование эутопического эндометрия и капсулы ЭКЯ проводили при помощи набора Tissue-Tek Quick-Ray (Unitma, Корея), который позволяет изготавливать парафиновые блоки с большим количеством образцов тканей (тканевые матрицы). Тканевая матрица (ТМА, tissue microarray) – это парафиновый блок, в котором упорядоченно расположены

фрагменты тканей, вырезанные из заранее определенных участков других парафиновых блоков. Парафиновые столбики с образцами ткани, извлеченные с помощью ручки-перфоратора, помещали в готовые парафиновые матрицы, затем заливали парафином и отправляли на микротомию. Полученный после микротомии срез помещали на предметное стекло и подвергали дальнейшей окраске. В исследовании использовались мышинные моноклональные антитела к CD 138 (clone D0-7, Dako, Denmark), мышинные моноклональные антитела к PTEN (clone 6H2.1, Dako, Denmark), кроличьи моноклональные антитела к фактору пролиферации клеток ki-67 (clone 30-9, VENTANA), мышинные моноклональные антитела к регулятору апоптоза bcl-2 (clone 124, VENTANA), кроличьи поликлональные антитела к транскрипционному фактору NF- $\kappa$ B p65 (clone p65, Spring Bioscience Corp.), мышинные моноклональные антитела к COX-2 (clone CX-294, Agilent), мышинные моноклональные антитела к  $\beta$ -катенину (clone 14, VENTANA) и кроличьи моноклональные антитела к ER- $\alpha$  (clone SP1, VENTANA) и PR- $\alpha$  (clone 1E2, VENTANA). Препараты готовили по стандартному протоколу с использованием иммуногистохимического Ventana Ultra. Для правильной постановки иммуногистохимических 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.

Оценку результатов для CD138 осуществляли следующим образом: экспрессию CD138 считали положительной при умеренно-сильной преимущественно мембранной окраске плазматических клеток и подсчитывали количество положительно окрашенных клеток в препарате. Оценку результатов для PTEN осуществляли следующим образом: экспрессию PTEN считали положительной при слабой-сильной цитоплазматической и/или ядерной окраске эпителиоцитов желез, экспрессию PTEN считали отрицательной при полном



отсутствии экспрессии маркера в железистом эпителии на участке морфологически измененного эндометрия.

Оценку результатов для ki-67 осуществляли следующим образом: экспрессия ki-67 подсчитывалась в % на 3000 клеток одного типа.

Оценку результатов для bcl-2, COX-2 и  $\beta$ -катенина осуществляли следующим образом: 0 баллов – отсутствие экспрессии, 1 балл – слабая экспрессия, 2 балла – умеренная экспрессия, 3 балла – сильная экспрессия.

Оценку результатов для NF- $\kappa$ B p65 осуществляли по иммуногистохимической шкале Ota [230]. Интенсивность оценивали в баллах: 1+, 2+ и 3+. Чувствительность оценивали в баллах: 1+ – 0-10 % – отсутствие экспрессии, 2+ – 10-50 % – слабая экспрессия, 3+ - >50% умеренная экспрессия.

Оценку результатов для ER- $\alpha$  и PR- $\alpha$  проводили с учетом количества окрашенных клеток и интенсивности окраски, используя метод гистологического счета H-score по формуле:  $HS=1a + 2b + 3c$ , где a – процент слабо окрашенных клеток, b – процент умеренно окрашенных клеток, c – процент сильно окрашенных клеток, 1, 2, 3 - интенсивность окрашивания, выраженная в баллах. Оценку результатов проводили по следующей шкале: 0-10 баллов – отсутствие экспрессии, 11-100 баллов – слабая экспрессия, 101-200 баллов – умеренная экспрессия, 201-300 баллов – выраженная экспрессия.

## **2.3.6 Молекулярно-генетические методы исследования**

### **2.3.6.1 Определение замен одиночных нуклеотидов (SNP)**

Анализ полиморфизмов генов в генотипе пациенток проводился в лаборатории молекулярно-генетических методов отдела клинической и молекулярной генетики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – д.б.н., профессор РАН Д.Ю. Трофимов).

Материалом для исследования аллельного полиморфизма генов были образцы периферической крови пациенток с добавленным в качестве консерванта ЭДТА. Сбор образцов периферической крови проводился перед операцией до введения наркотических веществ.

Пациенткам проводилось генотипирование по следующим локусам: *ZNF366* (rs4703908:G>C), *VEZT* (rs10859871:A>C) и *CDKN2B-AS* (rs10965235:C>A).

Выделение ДНК из образцов периферической крови проводили комплектом реагентов «ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Метод основан на разрушении лимфоцитов с помощью лизирующего буфера, не влияющего на целостность мембран ядер лимфоцитов.

Аmplификацию ДНК проводили на приборе ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). ПЦР-реакция проводилась с праймерами на участки генома rs4703908, rs10859871 и rs10965235:

rs4703908:        5'- GGACTGGGGTAGTGCTCCTCAGAA - 3'  
                       5'-GAATGAGCATTTGCATGGAGAGTCA- 3'

rs10859871:      5'- ATACAAAAGTCAGCCAGCCAGCC - 3'  
                       5'- CCTGGAACAATGGTGTAACT - 3'

rs10965235:      5'- GCTGCATTA CTGACTAAATACTT - 3'  
                       5'- GCGTCCTGGCATAAGTGTTAGTA - 3'

Последовательности фрагментов были определены путем секвенирования методом Сенгера на приборе ABI PRISM 3130 (Applied BioSystems, США). Генотипирование аллельных состояний каждого однонуклеотидного полиморфизма проводили визуально по хроматограммам с помощью программы BioEdit.

Данные по европейской популяции получены по опубликованным результатам Проекта «1000 геномов». Официальные данные данного проекта представлены на сайте: <http://www.ensembl.org/index.html>.

### 2.3.6.2 Исследование транскрипционного профиля эутопического эндометрия

Молекулярно-генетическое исследование эутопического эндометрия проводилось в лаборатории молекулярно-генетических методов отдела клинической и молекулярной генетики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – д.б.н., профессор РАН Д.Ю. Трофимов).

Материалом для исследования были образцы эутопического эндометрия, собранные в пробирки с RNA later. Сбор образцов эутопического эндометрия проводился при помощи аспирационной биопсии с использованием кюретки Pipelle de Cornie непосредственно во время операции до проведения гистероскопического исследования с последующим выскабливанием эндометрия и гистологическим исследованием полученного материала.

Транскриптомное исследование (mRNA microarray analysis). Выделение РНК из образцов эутопического эндометрия проводили набором RNeasy Mini Kit (Qiagen, США) в соответствии с инструкцией производителя. Исходным количеством для анализа было 500 нг РНК каждого образца. С помощью *in vitro* транскрипции была синтезирована целевая кДНК. Образцы целевой кДНК были фрагментированы и помечены биотином согласно протоколу производителя (Affymetrix, США). Гибридизация образцов проводилась на микрочипах GeneChip Human Exon 1.0 ST Arrays (Affymetrix, США), инкубация при 45°C продолжалась 17 ч. на 60 об/мин. Затем микрочипы промывались и окрашивались на Fluidics Station 450 (Affymetrix, США). После промывки микрочипы сканировали на лазерном сканере Affymetrix GeneChip 3000 7G (Affymetrix, США). Файлы DAT изображения микромассивов были получены с помощью пакета программ Affymetrix GeneChip Command Console (Version 0.0.0.676, Affymetrix, США). Анализ полученных данных проводили с помощью программ Expression Console и TAC (Transcriptome Analysis Console) (Affymetrix, США).

Количественная ОТ-ПЦР. Оценку уровня мРНК в образцах эутопического эндометрия проводили с помощью количественной полимеразной цепной реакции

с предварительной реакцией обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени в соответствии с инструкцией производителя (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Для определения уровня мРНК кандидатных генов в эутопическом эндометрии использовали предварительно разработанные праймеры и зонды для генов *FOS*, *EGR-1*, *FOSB*, *DUSP1*, *ZFP36* и *POSTN*.

Процедура исследования от момента получения образца ткани до получения результатов количественной ОТ-ПЦР состояла из трех этапов: выделение РНК из образцов эутопического эндометрия, проведение реакции обратной транскрипции и собственно ПЦР.

Выделение РНК из образцов эутопического эндометрия проводили набором RNeasy Mini Kit (Qiagen, США) в соответствии с инструкцией производителя. Объем конечного раствора составлял 60 мкл со средней концентрацией РНК в нем 35-40 мкг/мл.

После получения РНК сразу проводился этап обратной транскрипции. Реакцию проводили при температуре 40°C в течение 30 минут с последующей инактивацией обратной транскриптазы при 95°C в течение 5 минут. Для увеличения объемов образцов после проведения обратной транскрипции кДНК разводили в 5 раз в ТЕ-буфере.

Реакцию амплификации генов ставили в разных пробирках в двух повторах для каждого образца. Оптимальную температуру отжига праймеров и зондов подбирали экспериментально с использованием режима «градиент температур», для всех тест-систем температура была унифицирована и составила 64°C. Амплификацию осуществляли в режиме реального времени в объеме 35 мкл по следующей программе: 1 цикл – 80°C 30 сек., 94°C 1 мин.; 50 циклов – 94°C 10 сек., 64°C 20 сек. Измерение уровня флуоресценции проводили на каждом цикле при температуре 64°C, ДНК-зонды, использовавшиеся для детекции продуктов амплификации исследуемых и нормировочных генов, были помечены FAM.

Уровень экспрессии функциональных генов измеряли в относительных единицах (о.е.), определяемых методом  $\Delta\text{Cp}$  при нормировании по трем референсным генам (*TBP*, *B2M* и *GUSB*).

### **2.3.7. Послеоперационный период**

В послеоперационном периоде всем пациенткам назначали антибиотикотерапию и симптоматическое медикаментозное лечение. По показаниям проводили инфузионную терапию. Состояние пациенток оценивали по результатам общего анализа крови, биохимического анализа крови, гемостазиограммы, общего анализа мочи и контрольного УЗИ органов малого таза. Проводили комплекс реабилитационных мероприятий, включающих воздействие физическими факторами с первых суток после операции в интенсивном режиме и направленных на улучшение трофики тканей и условий заживления, а так же восстановление полноценной генеративной функции.

ГТ проводили дифференцированно, в зависимости от возраста, жалоб, желания реализовать репродуктивную функцию и состояния репродуктивной системы, локализации и стадии распространения эндометриоза (см. главу 2.1 «Дизайн исследования»). Оценку эффективности проведенного лечения осуществляли в поликлиническом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (см. главу 2.1 «Дизайн исследования»).

### **2.3.8 Статистический анализ полученных данных**

Статистический анализ полученных данных проводили с применением стандартных методов математико-статистической обработки с использованием пакетов программ прикладного статистического анализа («Statistica 10.0», «SPSS Statistics 22», «MedCalc», «Microsoft Excel»).

При анализе количественных данных в исследуемых группах определяли тип распределения данных (графический анализ данных, тест Колмогорова-Смирнова). При нормальном типе распределения данных определяли среднее значение со стандартным отклонением. Данные представлены как среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение. При ненормальном типе распределения данных использовали методы непараметрической статистики. В качестве меры центральной тенденции количественных признаков была выбрана медиана (M), а в качестве интервальной оценки – нижний (Q1) и верхний (Q3) квартили. Для оценки межгрупповых различий значений признаков применяли t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна-Уитни, критерий  $\chi^2$  Пирсона и H-критерий Крускала-Уоллиса. Для всех критериев и тестов величину критического уровня значимости принимали равной 0,05, т.е. различия признавали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Для оценки ассоциаций рассчитывали отношение шансов (ОШ) по формуле:

$$\text{ОШ} = ad/bc,$$

где a – число лиц с наличием анализируемого маркера среди пациенток; b – его отсутствие среди пациенток; c и d – число лиц соответственно с наличием и отсутствием маркера в контрольной группе. Величина ОШ=1 указывает на отсутствие ассоциации, ОШ>1 – положительная ассоциация с заболеванием (фактор риска) и ОШ<1 – отрицательная ассоциация с заболеванием (протективный фактор). Отношение шансов (ОШ) приведено с 95% доверительным интервалом (ДИ).

Качество факторов риска оценивали в программе «MedCalc» с использованием ROC-анализа (от англ. Receiver operating characteristic). Для выявления пороговых значений проводили построение ROC-кривой. Для получения численного значения клинической значимости теста, а также для сравнения двух тестов, использовался показатель AUC (от англ. Area Under Curve, «Площадь под кривой»). Судили о качестве теста по экспертной шкале для значений AUC (Таблица 3).

## Экспертная шкала для значений AUC

Интервал AUC	Качество модели
0,9 – 1,0	Отличное
0,8 – 0,9	Очень хорошее
0,7 – 0,8	Хорошее
0,6 – 0,7	Среднее
0,5 – 0,6	Неудовлетворительное

Метод логистической регрессии с расчетом AUC использовался для выведения уравнения вероятности возникновения рецидива.

### Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В соответствии с целью исследования и поставленными задачами были обследованы 268 пациенток, находившихся на лечении в гинекологическом отделении отдела оперативной гинекологии и общей хирургии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России с 2015 по 2017 гг. Из них I группу составили 188 пациенток с гистологически подтвержденным диагнозом НГЭ, II группу – 80 пациенток без эндометриоза. Все пациентки соответствовали критериям включения и, после ознакомления с целью и поставленными задачами исследования, подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

#### 3.1 Клинико-anamнестическая характеристика исследуемых пациенток

С целью минимизации систематической ошибки исследования для выявления возможных конфаундинг-факторов и их дальнейшего исключения изучена клинико-anamнестическая характеристика исследуемых пациенток.

На основании критерия Колмогорова-Смирнова выявлено, что возраст пациенток подчинялся закону нормального распределения. Использование t-критерия Стьюдента не выявило статистически значимых различий по возрасту между исследуемыми группами пациенток. Таким образом, средний возраст пациенток в I группе составил  $31,4 \pm 5,4$  года, средний возраст пациенток во II группе –  $31,8 \pm 5,3$  года ( $p=0,506$ , t-критерий Стьюдента).

Наиболее многочисленной оказалась группа пациенток активного репродуктивного возраста (18-35 лет) – 150 пациенток (79,8%) в I группе и 62 пациентки (77,5%) во II группе (Таблица 4, Рисунок 7).

Таблица 4.

Распределение исследуемых пациенток по возрасту

Группы	Ранний репродуктивный возраст (18-35 лет)	Поздний репродуктивный возраст (36-45 лет)
--------	---	--



	n	%	N	%
I группа	150	79,8	38	20,2
II группа	62	77,5	17	22,5

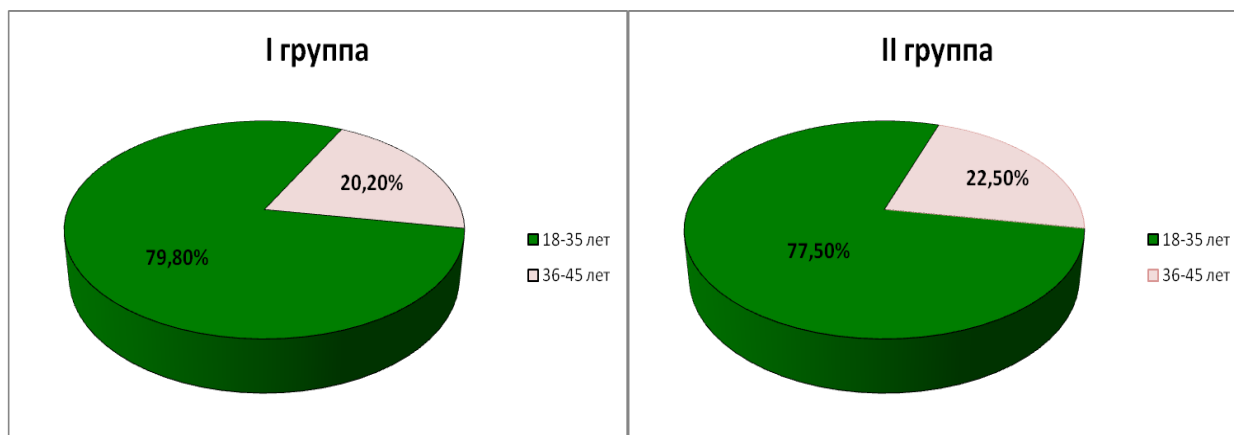


Рисунок 7. Распределение исследуемых пациенток по возрасту.

При общем осмотре все пациентки имели женский тип телосложения и правильное развитие вторичных половых признаков.

Средний рост пациенток в I группе составил  $166,5 \pm 5,5$  см, средний рост пациенток во II группе –  $166,5 \pm 6,6$  см ( $p=0,959$ , t-тест Стьюдента). Вес пациенток в I группе составил 58 (52-65) кг, вес пациенток во II группе – 61 (55,5-71) кг, ИМТ пациенток в I группе составил 20,8 (18,9-23,0) кг/м<sup>2</sup>, ИМТ пациенток во II группе – 22,1 (20,2-25,4) кг/м<sup>2</sup>. Вес и ИМТ пациенток с НГЭ (I группа) значимо ниже ( $p=0,047$ ,  $p=0,0011$ , соответственно, U-тест Манна-Уитни) (Таблица 5).

Таблица 5.

#### Антропометрические характеристики пациенток исследуемых групп

Показатель	I группа (n=188)	II группа (n=80)	P-уровень значимости
Рост (см)*	$166,5 \pm 5,5$	$166,5 \pm 6,6$	0,959
Вес (кг)**	58 (52-65)	61 (55,5-71)	<b>0,047</b>
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )**	20,8 (18,9-23,0)	22,1 (20,2-25,4)	<b>0,0011</b>

\*данные представлены как среднее значение±стандартное отклонение, t-тест Стьюдента;

\*\*данные представлены как медиана и интерквартильный размах, U-тест Манна-Уитни.

Характеристика менструального цикла пациенток исследуемых групп (возраст менархе, регулярность и продолжительность менструального цикла, длительность и интенсивность менструации) представлена в Таблице 6.

Таблица 6.

## Характеристика менструального цикла пациенток исследуемых групп

Параметр	I группа (n=188)	II группа (n=80)	P-уровень значимости
Возраст менархе (лет)*	13 (12-14)	13 (12-14)	0,981
Продолжительность менструального цикла (дни)*	28 (28-30)	28 (28-30)	0,329
Длительность менструации (дни)*	5 (5-5,75)	5 (5-6)	0,399
Болезненность менструации			
Болезненная менструация**	69,1% (130)	36,3% (29)	<b>&lt;0,0001</b>
Безболезненная менструация**	30,9% (58)	63,7% (51)	<b>&lt;0,0001</b>
Интенсивность менструального кровотечения			
Скудная**	3,2% (6)	5,0% (4)	0,475
Умеренная**	59,0% (111)	62,5% (50)	0,597
Обильная**	37,8% (71)	32,5% (26)	0,412

\*данные представлены как медиана и интерквартильный размах, U-тест Манна-Уитни;

\*\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

При анализе возраста менархе, продолжительности менструального цикла и длительности менструального кровотечения статистически значимых различий не выявлено ( $p > 0,05$ , U-тест Манна-Уитни).

В I группе (пациентки с НГЭ) 69,1% (130/188) пациенток имели болезненные менструации, во II группе 36,3% (29/80) пациенток имели болезненные менструации, полученные различия являются статистически значимыми ( $p < 0,0001$ ,  $\chi^2$ -тест) (Рисунок 8).

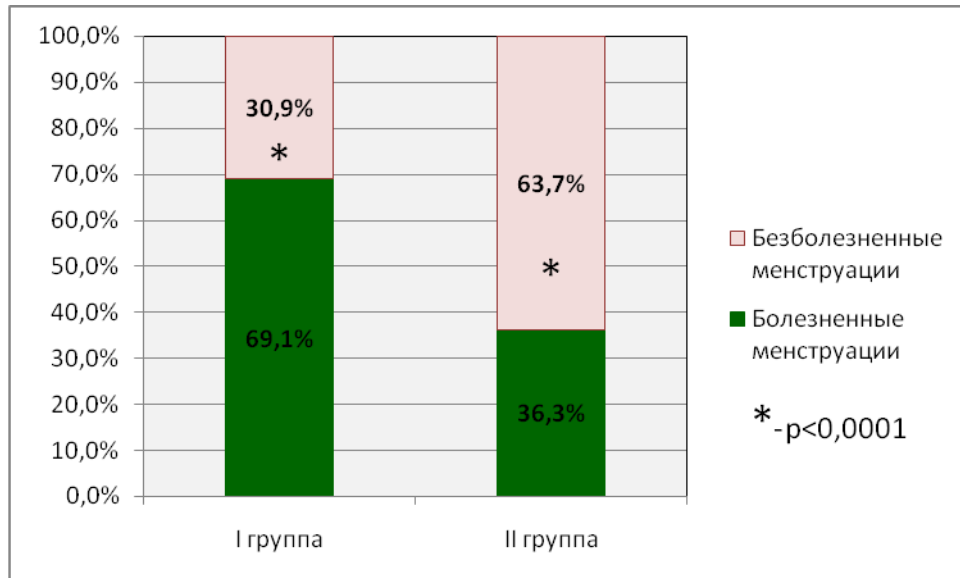


Рисунок 8. Болезненность менструаций у пациенток исследуемых групп.

По характеру менструальных выделений различий между исследуемыми группами пациенток не выявлено ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест).

При анализе наследственного анамнеза установлено, что наследственность в обеих исследуемых группах не отягощена (Таблица 7).

При анализе частоты встречаемости заболеваний дыхательной системы, сердечно-сосудистой системы, пищеварительной системы, мочевыделительной системы, эндокринной системы и онкологических заболеваний у ближайших родственников пациенток исследуемых групп статистических значимых различий не выявлено ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест).

При анализе гинекологического наследственного анамнеза выявлено: миому матки имели ближайшие родственницы 5,9% (11/188) пациенток I группы и 1,3% (1/80) пациенток II группы ( $p = 0,096$ ,  $\chi^2$ -тест), эндометриоз имели ближайшие родственницы по материнской линии 13,3% (25/188) пациенток I группы и 1,3% (1/80) пациенток II группы ( $p = 0,0023$ ,  $\chi^2$ -тест), гинекологические онкологические заболевания имели ближайшие родственницы 2,1% (4/188) пациенток I группы и 1,3% (1/80) пациенток II группы ( $p = 0,627$ ,  $\chi^2$ -тест). Таким образом, в гинекологическом наследственном анамнезе у пациенток основной исследуемой группы эндометриоз выявлялся статистически значимо чаще ( $p = 0,0023$ ,  $\chi^2$ -тест).

Наследственный анамнез пациенток исследуемых групп

Наследственный анамнез	I группа (n=188)	II группа (n=80)	P-уровень значимости
Отягощенная наследственность	42,0% (79)	42,5% (34)	0,942
Соматические заболевания			
Заболевания дыхательной системы	2,1% (4)	3,8% (3)	0,446
Заболевания сердечно-сосудистой системы	13,8% (26)	15,0% (12)	0,802
Варикозная болезнь вен ног	1,6% (3)	3,8% (3)	0,275
Наследственные тромбофилии	8,5% (16)	6,3% (5)	0,529
Заболевания пищеварительной системы	5,3% (10)	5,0% (4)	0,914
Заболевания мочевыделительной системы	1,1% (2)	0% (0)	0,354
Заболевания эндокринной системы	14,9% (28)	17,5% (14)	0,591
Сахарный диабет	13,8% (26)	17,5% (14)	0,440
Онкологические заболевания	18,1% (34)	16,3% (13)	0,718
Гинекологические заболевания			
Миома матки	5,9% (11)	1,3% (1)	0,096
Эндометриоз	13,3% (25)	1,3% (1)	<b>0,0023</b>
Гинекологические онкологические заболевания	2,1% (4)	1,3% (1)	0,627
Рак молочной железы	2,7% (5)	6,3% (5)	0,156

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

Структура сопутствующей экстрагенитальной патологии пациенток исследуемых групп представлена в Таблице 8. По полученным данным о структуре экстрагенитальной патологии у пациенток исследуемых групп статистически значимых различий не выявлено ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест).

Частота перенесенных детских инфекционных заболеваний достаточно высокая и составляет 78,2% (147/188) в I группе и 67,5% (54/80) во II группе ( $p=0,064$ ,  $\chi^2$ -тест). Инфекционные заболевания в анамнезе пациенток исследуемых групп соответствуют средне-популяционным данным.

Заболевания органов дыхательной системы выявлены у 39,4% (74/188) пациенток I группы и 27,5% (22/80) пациенток II группы ( $p=0,064$ ,  $\chi^2$ -тест). Структура заболеваний верхних дыхательных путей представлена хроническим ринитом, хроническим фарингитом, хроническим тонзиллитом и хроническим трахеитом, структура заболеваний легких – бронхиальной астмой, хроническим бронхитом и пневмонией.

Заболевания сердечно-сосудистой системы выявлены у 37,8% (71/188) пациенток I группы и 26,3% (21/80) пациенток II группы ( $p=0,069$ ,  $\chi^2$ -тест). В структуре заболеваний сердечно-сосудистой системы в обеих исследуемых группах наиболее часто выявляли пролапс митрального клапана, вегетососудистую дистонию по гипотоническому типу, гипертоническую болезнь и варикозное расширение вен ног. Состояние сердца и легких по результатам ЭКГ и рентгенологического исследования органов грудной клетки у большинства пациенток соответствовало возрастной группе.

Заболевания пищеварительной системы выявлены у 37,8% (71/188) пациенток I группы и 32,5% (26/80) пациенток II группы ( $p=0,412$ ,  $\chi^2$ -тест). В структуре заболеваний пищеварительной системы в обеих исследуемых группах наиболее часто выявляли хронический гастрит, хронический гастродуоденит, дискинезию желчновыводящих путей, хронический холецистит, желчнокаменную болезнь и хронический панкреатит.

Заболевания мочевыделительной системы выявлены в анамнезе у 26,6% (50/188) пациенток I группы и 16,3% (13/80) пациенток II группы ( $p=0,068$ ,  $\chi^2$ -тест). В структуре заболеваний мочевыделительной системы в обеих исследуемых группах наиболее часто выявляли хронический цистит, хронический пиелонефрит, хронический гломерулонефрит, мочекаменную болезнь.

Заболевания эндокринной системы выявлены у 10,6% (20/188) пациенток I группы и 15,0% (12/80) пациенток II группы ( $p=0,314$ ,  $\chi^2$ -тест). В структуре заболеваний эндокринной системы в обеих исследуемых группах наиболее часто выявляли сахарный диабет II типа и патологию щитовидной железы, в том числе аутоиммунного генеза.

Офтальмологические заболевания выявлены у 20,2% (38/188) пациенток I группы и 13,8% (11/80) пациенток II группы ( $p=0,21$ ,  $\chi^2$ -тест). В структуре офтальмологических заболеваний в обеих исследуемых группах наиболее часто выявляли миопию слабой и средней степени, миопический астигматизм.

Заболевания нервной системы выявлены у 3,7% (7/188) пациенток I группы и 3,8% (3/80) пациенток II группы ( $p=0,992$ ,  $\chi^2$ -тест). Структура заболеваний нервной системы представлена мигренью и эпилепсией.

Заболевания молочных желез выявлены у 8,0% (15/188) пациенток I группы и 6,3% (5/80) пациенток II группы ( $p=0,622$ ,  $\chi^2$ -тест). Структура заболеваний молочных желез представлена фиброзно-кистозной мастопатией и фиброаденомой.

Аллергические реакции выявлены у 36,2% (68/188) пациенток I группы и 28,8% (23/80) пациенток II группы ( $p=0,24$ ,  $\chi^2$ -тест). При анализе наличия аллергических реакций на лекарственные препараты, исследуемые группы пациенток между собой также не различались.

Генетические тромбофилические мутации (дефицит антитромбина III, дефицит протеина C, дефицит протеина S, лейденовская мутация, мутация гена протромбина, мутация гена *MTHFR*) и антифосфолипидный синдром выявлены у 3,7% (7/188) пациенток I группы и 3,8% (3/80) пациенток II группы ( $p=0,992$ ,  $\chi^2$ -тест).

Таблица 8.

Структура экстрагенитальной патологии пациенток исследуемых групп

Экстрагенитальные заболевания	I группа (n=188)	II группа (n=80)	P-уровень значимости
Детские инфекционные	78,2% (147)	67,5% (54)	0,064

заболевания			
Заболевания дыхательной системы	39,4% (74)	27,5% (22)	0,064
Заболевания сердечно-сосудистой системы	37,8% (71)	26,3% (21)	0,069
Заболевания пищеварительной системы	37,8% (71)	32,5% (26)	0,412
Заболевания мочевыделительной системы	26,6% (50)	16,3% (13)	0,068
Заболевания эндокринной системы	10,6% (20)	15,0% (12)	0,314
Офтальмологические заболевания	20,2% (38)	13,8% (11)	0,210
Заболевания нервной системы	3,7% (7)	3,8% (3)	0,992
Заболевания молочных желез	8,0% (15)	6,3% (5)	0,622
Аллергические реакции	36,2% (68)	28,8% (23)	0,240
Генетические тромбофилические мутации	3,7% (7)	3,8% (3)	0,992

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

По полученным данным о перенесенных экстрагенитальных оперативных вмешательствах у пациенток исследуемых групп статистически значимых различий не выявлено ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест) (Таблица 9).

Таблица 9.

Структура наиболее часто встречаемых перенесенных экстрагенитальных оперативных вмешательств у пациенток исследуемых групп

Оперативные вмешательства в анамнезе	I группа (n=188)	II группа (n=80)	P-уровень значимости
Оперативные вмешательства в анамнезе*	26,6% (50)	32,5% (26)	0,326
Общее количество оперативных вмешательств**	26,6% (50)	32,5% (26)	0,326
Ринопластика**	1,6% (3)	3,8% (3)	0,275
Тонзиллэктомия**	3,7% (7)	3,8% (3)	0,992
Флебэктомия**	1,1% (2)	0% (0)	0,354

Пластика паховой/бедренной грыжи**	1,1% (2)	0% (0)	0,354
Холецистэктомия**	0,5% (1)	1,3% (1)	0,532
Аппендэктомия**	11,7% (22)	13,8% (11)	0,641
Офтальмологические операции**	2,1% (4)	6,3% (5)	0,086
Операции на молочных железах**	4,8% (9)	3,8% (3)	0,707

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест;

\*\*данные представлены как доли оперативных вмешательств в % и абсолютное число оперативных вмешательств,  $\chi^2$ -тест.

Гинекологические заболевания в анамнезе имели 92,0% (173/188) пациенток I группы и 83,8% (67/80) пациенток II группы ( $p=0,043$ ,  $\chi^2$ -тест) (Таблица 10). Принимая во внимание рецидивирование НГЭ, а также особенности набора пациенток в группу сравнения, подобные различия по частоте встречаемости некоторых нозологий (хронический сальпингоофорит, НГЭ) в структуре перенесенных гинекологических заболеваний вполне объяснимы.

Таблица 10.

Структура перенесенных гинекологических заболеваний  
у пациенток исследуемых групп

Гинекологические заболевания	I группа (n=188)	II группа (n=80)	P-уровень значимости
Гинекологические заболевания в анамнезе*	92,0% (173)	83,8% (67)	<b>0,043</b>
ИППП**	36,2% (68)	25,0% (20)	0,075
Полип эндометрия**	11,7% (22)	6,3% (5)	0,175
Гиперплазия эндометрия**	1,1% (2)	0% (0)	0,354
Внутриматочные синехии**	1,6% (3)	0% (0)	0,256
ДМК**	2,1% (4)	1,3% (1)	0,627
Эрозия шейки матки**	36,2% (68)	25,0% (20)	0,075
Хронический сальпингоофорит**	14,4% (27)	25,0% (20)	<b>0,036</b>
Гидросальпинкс**	0,5% (1)	0% (0)	0,513
Параовариальные кисты**	1,1% (2)	0% (0)	0,354
Функциональные кисты яичников**	2,1% (4)	2,5% (2)	0,850



Синдром поликистозных яичников**	1,1% (2)	2,5% (2)	0,375
Доброкачественные опухоли яичников**	4,3% (8)	5,0% (4)	0,787
Апоплексия яичника**	4,3% (8)	2,5% (2)	0,488
Миома матки**	3,7% (7)	0% (0)	0,080
НГЭ**	23,9% (45)	0% (0)	<b>&lt;0,0001</b>

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест;

\*\*данные представлены как доли гинекологических заболеваний в % и абсолютное число гинекологических заболеваний,  $\chi^2$ -тест.

Оперативные вмешательства на органах малого таза были проведены у 56,4% (106/188) пациенток I группы и 43,8% (35/80) пациенток II группы, полученные различия не являются статистически значимыми ( $p=0,058$ ,  $\chi^2$ -тест) (Таблица 11). Общее количество оперативных вмешательств на органах малого таза в I группе – 171 (91,0%), во II группе – 63 (78,8%), полученные различия являются статистически значимыми ( $p=0,006$ ,  $\chi^2$ -тест). Принимая во внимание рецидивирование НГЭ, а также особенности набора пациенток в группу сравнения, подобные различия вполне объяснимы.

Таблица 11.

Структура перенесенных оперативных вмешательств на органах малого таза у пациенток исследуемых групп

Оперативные вмешательства в анамнезе	I группа (n=188)	II группа (n=80)	P-уровень значимости
Оперативные вмешательства в анамнезе*	56,4% (106)	43,8% (35)	0,058
Общее количество оперативных вмешательств**	91,0% (171)	78,8% (63)	<b>0,006</b>
Операции на шейке матки**	12,8% (24)	8,8% (7)	0,347
Конизация шейки матки**	0,5% (1)	1,3% (1)	0,532
Лазерокоагуляция шейки матки**	4,8% (9)	5,0% (4)	0,941
Криодеструкция**	1,6% (3)	1,3% (1)	0,831
Прижигание ш/матки**	5,9% (11)	1,3% (1)	0,096
Гистероскопия, РДВ**	19,7% (37)	22,5% (18)	0,601
Гистероскопия, полипэктомия**	4,3% (8)	1,3% (1)	0,211

Диагностическая лапароскопия**	1,6% (3)	6,3% (5)	<b>0,040</b>
Консервативная миомэктомия**	3,7% (7)	0% (0)	0,080
Аднексэктомия**	0,5% (1)	1,3% (1)	0,532
Овариоэктомия**	1,1% (2)	0% (0)	0,354
Резекция яичника**	8,0% (15)	5,0% (4)	0,385
Дриллинг яичников**	1,1% (2)	0% (0)	0,354
Тубэктомия**	5,9% (11)	1,3% (1)	0,235
Туботомия**	1,1% (2)	2,5% (2)	0,375
Сальпингоовариолизис**	1,6% (3)	10,0% (8)	<b>0,0015</b>
Пластика маточных труб**	0% (0)	2,5% (2)	<b>0,030</b>
Кесарево сечение**	5,9% (11)	17,5% (14)	<b>0,003</b>
Лечение НГЭ**	23,9% (45)	0% (0)	<b>&lt;0,0001</b>
Иссечение и/или коагуляция очагов НГЭ**	10,7% (20)	0% (0)	<b>0,0024</b>
Резекция яичника (ЭКЯ)**	18,6% (35)	0% (0)	<b>&lt;0,0001</b>

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест;

\*\*данные представлены как доли оперативных вмешательств в % и абсолютное число оперативных вмешательств,  $\chi^2$ -тест.

Данные о количестве и характере жалоб пациенток исследуемых групп представлены в Таблице 12. Отсутствуют значимые различия в отношении жалоб на меноррагию, метроррагию, кровянистые выделения из половых путей по типу «мазни» и бесплодие I/II ( $p>0,05$ ,  $\chi^2$ -тест). Выявлены значимые различия в отношении жалоб на хроническую тазовую боль, диспареунию, дисменорею и невынашивание беременности ( $p<0,05$ ,  $\chi^2$ -тест). Принимая во внимание симптоматику характерную для пациенток с НГЭ, а также особенности набора пациенток в группу сравнения, подобные различия по частоте и структуре жалоб вполне объяснимы.

Таблица 12.

## Структура жалоб пациенток исследуемых групп

Жалобы	I группа (n=188)	II группа (n=80)	P-уровень значимости
Хроническая тазовая боль	55,9% (105)	37,5% (30)	<b>0,006</b>
Диспареуния	13,3% (25)	3,8% (3)	<b>0,019</b>
Дисменорея	69,1% (130)	36,3% (29)	<b>&lt;0,0001</b>
Меноррагия	37,8% (71)	32,5% (26)	0,412

Метроррагия	3,2% (6)	6,3% (5)	0,248
Кровянистые выделения по типу «мазни»	10,1% (19)	5,0% (4)	0,172
Нарушение репродуктивной функции	42,0% (79)	55,0% (44)	0,051
Бесплодие I	26,1% (49)	26,3% (21)	0,975
Бесплодие II	13,3% (25)	20,0% (16)	0,163
Невынашивание беременности	2,7% (5)	8,8% (7)	<b>0,027</b>

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

При проведении многофакторного анализа значимым фактором риска развития НГЭ являлось наличие эндометриоза у ближайших родственниц по материнской линии.

Таким образом, после сравнительного анализа наследственного, соматического и гинекологического анамнезов, а также жалоб пациенток исследуемых групп, было выявлено, что пациентки с НГЭ имели меньший ИМТ (астеническое телосложение), чаще имели гинекологические заболевания в анамнезе (за счет рецидивирования НГЭ), оперативные вмешательства на органах малого таза (по поводу НГЭ) и болевой синдром (хроническая тазовая боль, диспареуния и дисменорея). Данные отличия были учтены в дальнейшем в качестве возможных конфаундинг-факторов. По остальным параметрам значительных различий в исследуемых группах выявлено не было, это значит, что набор пациенток в исследование произведен правильно и позволяет проводить дальнейшее исследование.

### **3.2 Отдаленные результаты хирургического лечения, частота и клинические факторы риска рецидивирования эндометриоидных кист яичников**

Данная глава посвящена оценке результатов обследования и хирургического лечения 118 пациенток с ЭКЯ, которая проведена на основе анализа данных предоперационной диагностики, основных параметров операции, ближайших и отдаленных результатов хирургического лечения, восстановления и

реализации репродуктивной функции. Клинико-anamнестическая характеристика исследуемых пациенток представлена в Таблице 13.

Таблица 13.

## Клинико-anamнестическая характеристика исследуемых пациенток

Параметр	Пациентки с ЭКЯ (n=118)
Возраст (годы)*	31,1±5,5
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )**	20,6 (18,7-22,5)
Возраст менархе (годы)**	13 (12-14)
Продолжительность менструального цикла (дни)**	28 (28-30)
Длительность менструации (дни)**	5 (5-6)
Миома матки малых размеров***	11,9% (14)
Спаечный процесс***	67,8% (80)

\*данные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение;

\*\*данные представлены как медиана и интерквартильный размах;

\*\*\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток.

В послеоперационном периоде ГТ была назначена 48,3% (57/118) пациенток. В качестве ГТ назначали гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев после операции – 33,1% (39/118) пациенток и диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме в течение 12 месяцев после операции – 15,3% (18/118) пациенток (Таблица 14).

Таблица 14.

## Клиническая характеристика пациенток исследуемых групп

Параметр	Пациентки с ЭКЯ – без ГТ после операции (n=61)	Пациентки с ЭКЯ – гозерелин после операции (n=39)	Пациентки с ЭКЯ – диеногест после операции (n=18)	P-уровень значимости
Суммарный диаметр ЭКЯ (см)*	6,15±4,33	5,56±3,07	5,66±4,92	p=0,645
Стадия распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г.				
I-II стадия**	37,7% (23)	41,0% (16)	44,4% (8)	p=0,862
III-IV стадия**	62,3% (38)	59,0% (23)	55,6% (10)	p=0,862
Сопутствующие формы эндометриоза				
Глубокий инфильтративный эндометриоз**	23,0% (14)	46,2% (18)	33,3% (6)	p=0,053
Эндометриоидные очаги на	78,7% (48)	89,7% (35)	83,3% (15)	p=0,356

брюшине малого таза**				
Аденомиоз**	32,8% (20)	38,5% (15)	27,8% (5)	p=0,706
Спаечный процесс**	70,5% (43)	66,7% (26)	66,7% (12)	p=0,905

\*данные представлены как среднее значение±стандартное отклонение, Н-тест Крускала-Уоллиса;

\*\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

Наиболее часто встречающимися жалобами у пациенток с ЭКЯ были жалобы на хроническую тазовую боль, диспареунию, дисменорею, меноррагию и бесплодие. Проведен анализ жалоб у пациенток исследуемых подгрупп через 1,5 года после оперативного лечения в сравнении с жалобами до оперативного лечения (Рисунок 9).

В подгруппе пациенток, не получавших ГТ, жалобы на хронические тазовые боли имели 65,5% (40/61) пациенток до операции против 14,8% (9/61) пациенток после операции ( $p<0,0001$ ,  $\chi^2$ -тест), диспареунию – 8,2% (5/61) пациенток до операции против 4,9% (3/61) пациенток после операции ( $p=0,464$ ,  $\chi^2$ -тест), дисменорею – 37,7% (23/61) пациенток до операции против 6,6% (4/61) пациенток после операции ( $p<0,0001$ ,  $\chi^2$ -тест), меноррагию – 34,4% (21/61) пациенток до операции против 3,3% (2/61) пациенток после операции ( $p<0,0001$ ,  $\chi^2$ -тест) и бесплодие – 50,8% (31/61) пациенток до операции против 37,7% (23/61) пациенток после операции ( $p=0,145$ ,  $\chi^2$ -тест). Таким образом, жалобы на хронические тазовые боли возобновились у 22,5% (9/40) пациенток, жалобы на диспареунию – у 60,0% (3/5) пациенток, жалобы на дисменорею – у 17,4% (4/23) пациенток, жалобы на меноррагию – у 9,5% (2/21) пациенток и жалобы на бесплодие остались у 74,2% (23/31) пациенток.

В подгруппе пациенток, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев, жалобы на хронические тазовые боли имели 66,7% (26/39) пациенток до операции против 12,8% (5/39) пациенток после операции ( $p<0,0001$ ,  $\chi^2$ -тест), диспареунию – 23,1% (9/39) пациенток до операции против 0% (0/39) пациенток после операции ( $p=0,0014$ ,  $\chi^2$ -тест), дисменорею – 46,2% (18/39) пациенток до операции против 0% (0/39) пациенток после операции ( $p<0,0001$ ,  $\chi^2$ -тест), меноррагию – 35,9% (14/39) пациенток до операции против 0% (0/39)

пациенток после операции ( $p < 0,0001$ ,  $\chi^2$ -тест) и бесплодие – 53,8% (21/39) пациенток до операции против 20,5% (8/39) пациенток после операции ( $p = 0,0023$ ,  $\chi^2$ -тест). Таким образом, жалобы на хронические тазовые боли возобновились у 19,2% (5/26) пациенток, жалобы на диспареунию – у 0% (0/9) пациенток, жалобы на дисменорею – у 0% (0/18) пациенток, жалобы на меноррагию – у 0% (0/39) пациенток и жалобы на бесплодие остались 38,1% (8/21) пациенток.

В подгруппе пациенток, получавших диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме в течение 12 месяцев, жалобы на хронические тазовые боли имели 61,1% (11/18) пациенток до операции против 11,1% (2/18) пациенток после операции ( $p = 0,0018$ ,  $\chi^2$ -тест), дисменорею – 44,4% (8/18) пациенток до операции против 5,6% (1/18) пациенток после операции ( $p = 0,0071$ ,  $\chi^2$ -тест) и меноррагию – 38,9% (7/18) пациенток до операции против 5,6% (1/18) пациенток после операции ( $p = 0,016$ ,  $\chi^2$ -тест). Таким образом, жалобы на хронические тазовые боли возобновились у 18,2% (2/11) пациенток, жалобы на дисменорею – у 12,5% (1/8) пациенток и жалобы на меноррагию – у 14,2% (1/7) пациенток.

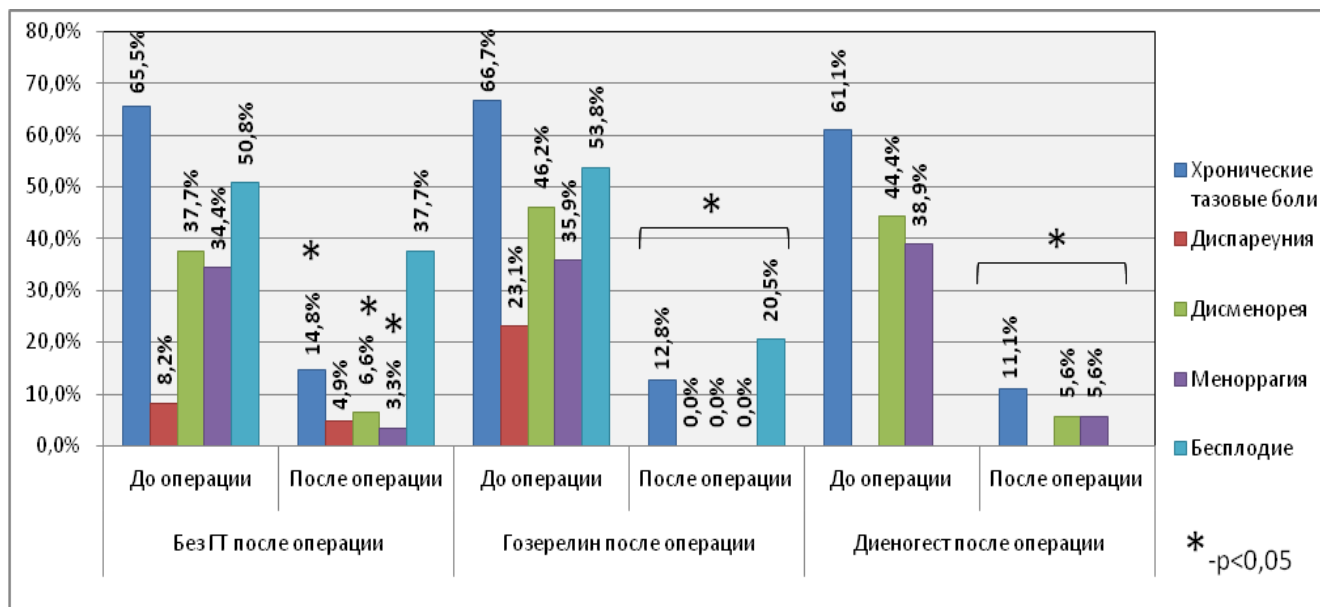


Рисунок 9. Анализ жалоб пациенток исследуемых групп.

Таким образом, улучшения симптоматики удалось достичь у большинства пациенток во всех исследуемых подгруппах ( $p < 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест).

Проведено изучение репродуктивной функции у пациенток исследуемых подгрупп через 1,5 года после оперативного лечения. Необходимо отметить, что при анализе репродуктивной функции из исследования были исключены пациентки, которые по субъективным причинам отказались от реализации репродуктивной функции в послеоперационном периоде, а также пациентки с выраженной патозооспермией у супруга (концентрация сперматозоидов менее 100000/мл, наличие менее 4% морфологически нормальных сперматозоидов по критериям Крюгера). Следовательно, анализ репродуктивных исходов и исследование их структуры было проведено у 52 пациенток.

В подгруппе пациенток с ЭКЯ, не получавших ГТ после оперативного лечения, жалобы на бесплодие до оперативного лечения имелись у 50,8% (31/61) пациенток. В подгруппе пациенток с ЭКЯ, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев, жалобы на бесплодие до оперативного лечения имелись у 53,8% (21/39) пациенток.

После оперативного лечения за период наблюдения 1,5 года жалобы на бесплодие остались у 74,2% (23/31) пациенток, не получавших ГТ после операции, и у 38,1% (8/21) пациенток, получавших гозерелин после операции, полученные различия являются статистически значимыми ( $p=0,0092$ ,  $\chi^2$ -тест). Это значит, что среди пациенток, не получавших ГТ после операции, беременность наступила у 25,8% (8/31) пациенток с жалобами на отсутствие беременности до операции, а среди пациенток, получавших гозерелин после операции, беременность наступила у 61,9% (13/21) пациенток с жалобами на отсутствие беременности до операции. Таким образом, частота наступления беременности выше среди пациенток, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев после оперативного лечения, полученные различия являются статистически значимыми ( $p=0,0092$ ,  $\chi^2$ -тест) (Таблица 15, Рисунок 10).

Таблица 15.

Репродуктивная функция пациенток исследуемых групп

Параметр	Пациентки с ЭКЯ – без ГТ после	Пациентки с ЭКЯ – гозерелин после	P-уровень значимости
----------	-----------------------------------	--------------------------------------	-------------------------

	операции (n=61)	операции (n=39)	
Результаты обследования до оперативного лечения			
Жалобы на отсутствие беременности	50,8% (31/61)	53,8% (21/39)	0,768
Результаты обследования через 1,5 года после оперативного лечения			
Бесплодие	74,2% (23/31)	38,1% (8/21)	<b>0,0092</b>
Беременность	25,8% (8/31)	61,9% (13/21)	<b>0,0092</b>

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

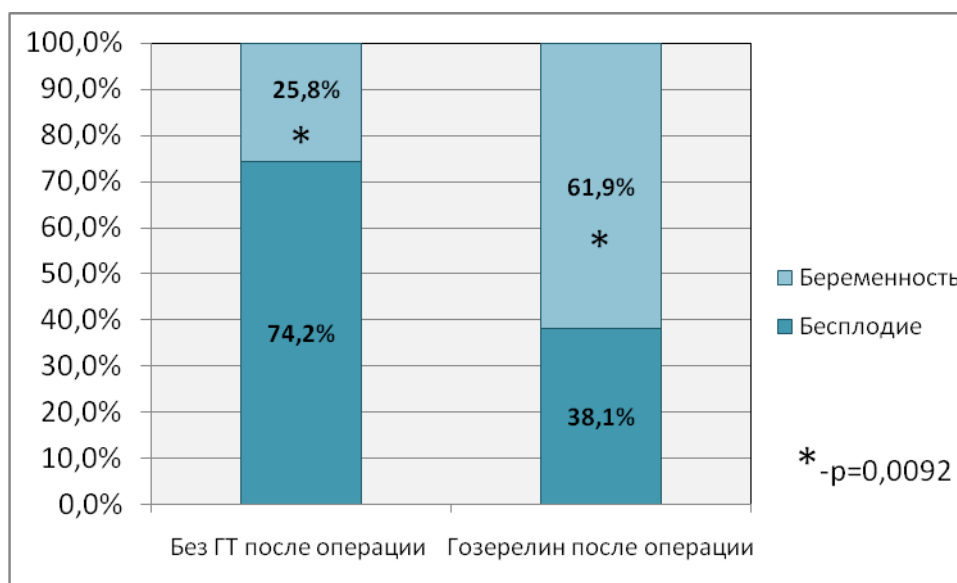


Рисунок 10. Репродуктивная функция пациенток исследуемых групп.

Проведено изучение структуры наступления беременности у пациенток исследуемых подгрупп.

В подгруппе пациенток, не получавших ГТ после оперативного лечения, у 75,0% (6/8) пациенток беременность наступила самопроизвольно и у 25,0% (2/8) пациенток после проведения программы ВРТ, в подгруппе пациенток, получавших гозерелин после оперативного лечения, у 92,3% (12/13) пациенток беременность наступила самопроизвольно и у 7,7% (1/13) пациенток после проведения программы ВРТ ( $p=0,271$ ,  $\chi^2$ -тест).

Проведено изучение частоты рецидивирования ЭКЯ у пациенток исследуемых подгрупп за период наблюдения 1,5 года после оперативного лечения.



В подгруппе пациенток с ЭКЯ, не получавших ГТ после оперативного лечения, частота рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года составила 19,7% (12/61). Самый ранний рецидив ЭКЯ наблюдался через 7 месяцев после оперативного вмешательства. В подгруппе пациенток с ЭКЯ, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев после оперативного лечения, частота рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года составила 17,9% (7/39). Самый ранний рецидив ЭКЯ наблюдался через 9 месяцев после оперативного вмешательства. Частота рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года выше у пациенток, не получавших ГТ после оперативного лечения, однако полученные различия не являются статистически значимыми ( $p=0,830$ ,  $\chi^2$ -тест). В подгруппе пациенток с ЭКЯ, получавших диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме в течение 12 месяцев, рецидивов ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года не выявлено (0/18). Полученные различия при сравнении с пациентками, не получавшими ГТ, являются статистически значимыми ( $p=0,041$ ,  $\chi^2$ -тест), а при сравнении с пациентками, получавшими гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев, статистически значимых различий не выявлено ( $p=0,055$ ,  $\chi^2$ -тест).

Проведено изучение зависимости рецидивирования ЭКЯ от клинико-эндоскопических данных, а также определение порога отсечения для значимых факторов. Пациентки, получавшие диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме в течение 12 месяцев после оперативного лечения, были исключены из исследования по выявлению факторов риска рецидивирования ЭКЯ.

Все исследуемые пациентки (100 пациенток) были разделены на две группы в зависимости от наличия/отсутствия рецидивирования ЭКЯ: I группа – пациентки с ЭКЯ, не имеющие рецидива ЭКЯ в течение 1,5 года после оперативного лечения (81 пациентка); II группа – пациентки с ЭКЯ, у которых в течение 1,5 года после оперативного лечения выявлен рецидив ЭКЯ (19 пациенток).

Проведен анализ жалоб у пациенток без рецидива ЭКЯ и пациенток с рецидивом ЭКЯ через 1,5 года после оперативного лечения. Среди пациенток без рецидива ЭКЯ жалобы появились у 9,9% (8/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ жалобы появились у 52,6% (10/19) пациенток ( $p < 0,0001$ ,  $\chi^2$ -тест). Таким образом, рецидивирование ЭКЯ через 1,5 года после оперативного лечения сопровождается жалобами только у 52,6% пациенток. Структура жалоб пациенток исследуемых групп представлена в Таблице 16 и на Рисунке 11.

Таблица 16.

Жалобы до и после оперативного лечения у пациенток исследуемых групп

Параметр	Пациентки без рецидива ЭКЯ (n=81)	Пациентки с рецидивом ЭКЯ (n=19)	P-уровень значимости
<b>Жалобы до оперативного лечения</b>			
Хроническая тазовая боль	66,7% (53)	63,2% (12)	0,852
Диспареуния	16,0% (13)	5,3% (1)	0,223
Дисменорея	43,2% (35)	31,6% (6)	0,354
Меноррагия	33,3% (27)	42,1% (8)	0,471
Метроррагия	3,7% (3)	5,3% (1)	0,755
Кровянистые выделения по типу «мазни»	13,6% (11)	26,3% (5)	0,173
Бесплодие	53,1% (43)	47,4% (9)	0,653
<b>Жалобы через 1,5 года после оперативного лечения</b>			
Хроническая тазовая боль	9,9% (8)	31,6% (6)	<b>0,014</b>
Диспареуния	3,7% (3)	0% (0)	0,394
Дисменорея	2,5% (2)	10,5% (2)	0,107
Меноррагия	1,2% (1)	5,3% (1)	0,259
Метроррагия	0% (0)	0% (0)	-
Кровянистые выделения по типу «мазни»	1,2% (1)	0% (0)	0,626
Бесплодие	19,8% (16)	31,6% (6)	0,263

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

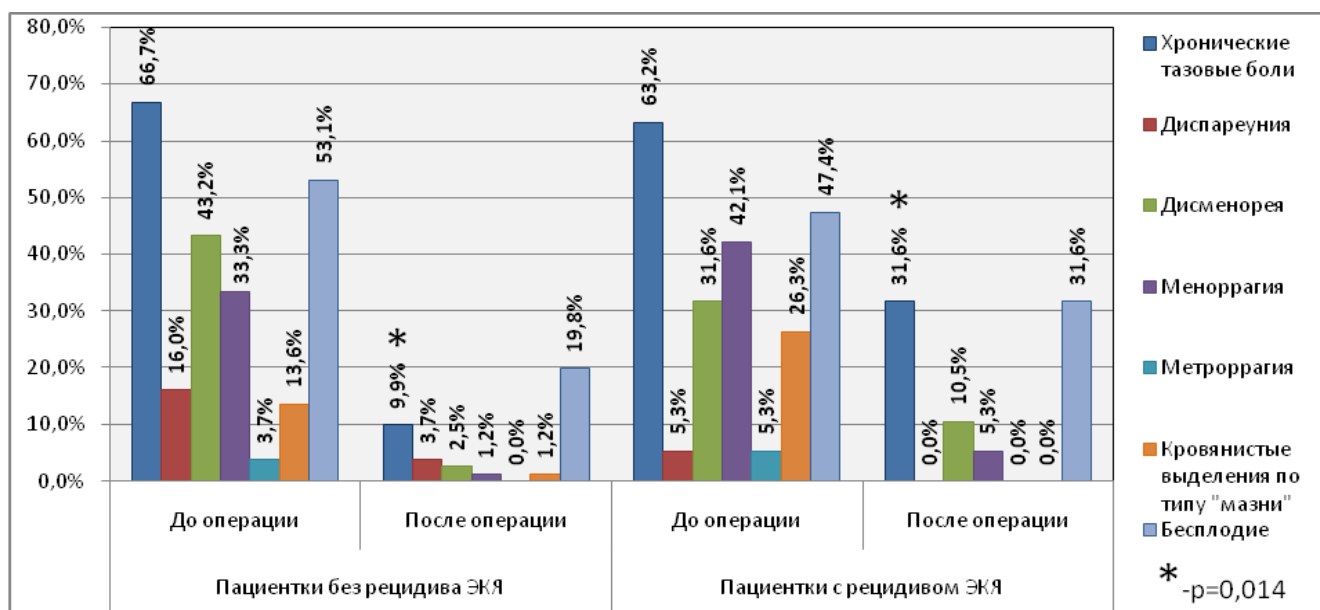


Рисунок 11. Жалобы до и после оперативного лечения у пациенток исследуемых групп.

Таким образом, основной жалобой пациенток с рецидивом ЭКЯ через 1,5 года после оперативного лечения была жалоба на хроническую тазовую боль (у 31,6% пациенток,  $p=0,014$ ).

ИМТ, характеристики менструального цикла и возраст во время оперативного вмешательства статистически значимо не различались у пациенток без рецидива ЭКЯ и пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p>0,05$ ).

Суммарный диаметр ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ составил  $5,00\pm 2,70$  см, суммарный диаметр ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ –  $8,63\pm 4,97$  см. Полученные различия между исследуемыми группами пациенток являются статистически значимыми ( $p<0,0001$ , t-тест Стьюдента).

Зависимость уровня рецидивирования ЭКЯ от суммарного диаметра ЭКЯ исследована ROC-анализом (Рисунок 12). Для определения порогового суммарного диаметра ЭКЯ, при котором происходит резкое увеличение вероятности развития рецидива ЭКЯ, проведен анализ с построением ROC-кривой. По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (94,74% и 54,32% соответственно) отмечается при суммарном диаметре ЭКЯ  $>4,5$  см. В данном случае показатель

AUC=0,762 (95%ДИ: 0,660-0,863,  $p<0,0001$ ), что характеризует качество модели как «хорошее».

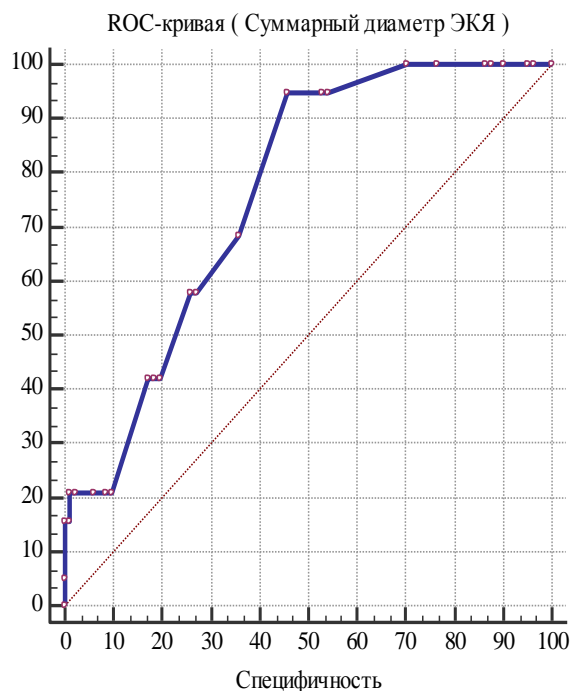


Рисунок 12. ROC-кривая зависимости уровня рецидивирования ЭКЯ от суммарного диаметра ЭКЯ.

По нашим данным, тест обладает очень высокой чувствительностью (94,74%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность отрицательного результата теста очень высокая.

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ двухсторонние ЭКЯ имели 38,3% (31/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ – 42,1% (8/19) пациенток ( $p=0,758$ ,  $\chi^2$ -тест).

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ I-II стадию заболевания имели 44,4% (36/81) пациенток, III-IV стадию заболевания – 55,6% (45/81) пациенток. Среди пациенток с рецидивом ЭКЯ I-II стадию заболевания имели 15,8% (3/19) пациенток, III-IV стадию заболевания – 84,2% (16/19) пациенток. Полученные различия между исследуемыми группами пациенток являются статистически значимыми ( $p=0,021$ ,  $\chi^2$ -тест) (Таблица 17).

Зависимость уровня рецидивирования ЭКЯ  
от стадии распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г.

Стадия распространения	Пациентки без рецидива ЭКЯ (n=81)	Пациентки с рецидивом ЭКЯ (n=19)	P-уровень значимости
I-II стадия	44,4% (36/81)	15,8% (3/19)	<b>0,021</b>
III-IV стадия	55,6% (45/81)	84,2% (16/19)	<b>0,021</b>

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

Зависимость уровня рецидивирования ЭКЯ от стадии распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г. исследована ROC-анализом (Рисунок 13). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (36,84% и 92,59% соответственно) отмечается при III-IV стадии заболевания. В данном случае показатель AUC=0,714 (95%ДИ: 0,591-0,838, p=0,0007), что характеризует качество модели как «хорошее».

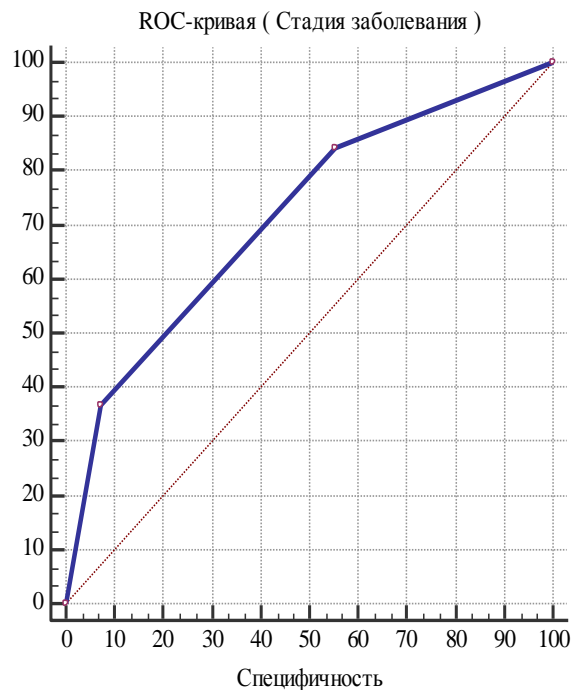


Рисунок 13. ROC-кривая зависимости уровня рецидивирования ЭКЯ от стадии распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г.

По нашим данным, тест обладает очень высокой специфичностью (92,59%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного результата теста очень высокая.

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ оперативные вмешательства по поводу эндометриоза в анамнезе имели 11,1% (9/81) пациенток. Среди пациенток с рецидивом ЭКЯ оперативные вмешательства по поводу эндометриоза в анамнезе имели 47,4% (9/19) пациенток. Полученные различия между исследуемыми группами пациенток являются статистически значимыми ( $p=0,00021$ ,  $\chi^2$ -тест).

Зависимость уровня рецидивирования ЭКЯ от наличия в анамнезе оперативных вмешательств по поводу эндометриоза исследована ROC-анализом (Рисунок 14). Данная модель обладала чувствительностью 47,37% и специфичностью 92,59%. В данном случае показатель  $AUC=0,681$  (95% ДИ: 0,561-0,802,  $p=0,0032$ ), что характеризует качество модели как «среднее».

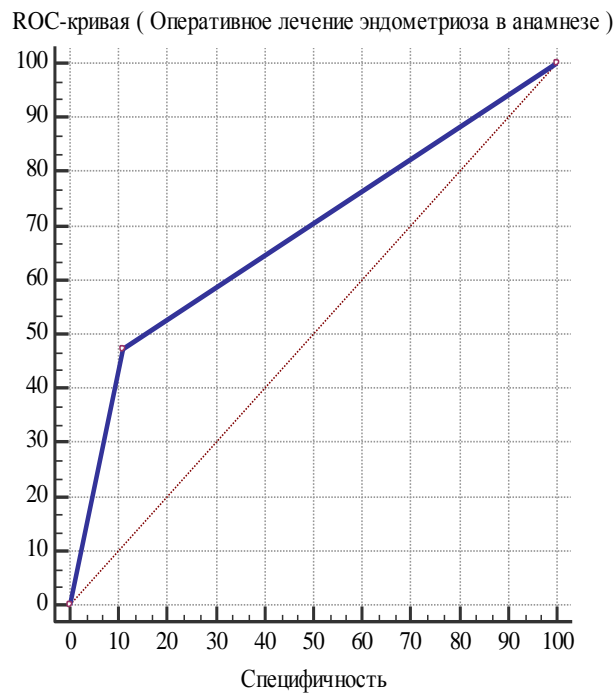


Рисунок 14. ROC-кривая зависимости уровня рецидивирования ЭКЯ от наличия в анамнезе оперативных вмешательств по поводу эндометриоза.

По нашим данным, тест обладает очень высокой специфичностью (88,89%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного результата теста очень высокая.

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ глубокий инфильтративный эндометриоз имели 33,3% (27/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ – 26,3% (5/19) пациенток ( $p=0,555$ ,  $\chi^2$ -тест).

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ эндометриоидные очаги на брюшине малого таза имели 86,4% (70/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ – 68,4% (13/19) пациенток ( $p=0,060$ ,  $\chi^2$ -тест).

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ аденомиоз имели 34,6% (28/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ – 52,6% (10/19) пациенток ( $p=0,144$ ,  $\chi^2$ -тест).

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ спаечный процесс имели 67,9% (55/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ – 73,7% (14/19) пациенток ( $p=0,624$ ,  $\chi^2$ -тест).

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ хронические тазовые боли до оперативного лечения имели 64,2% (52/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ – 63,2% (12/19) пациенток ( $p=0,932$ ,  $\chi^2$ -тест).

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ дисменореей до оперативного лечения имели 46,8% (38/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ – 36,8% (7/19) пациенток ( $p=0,427$ ,  $\chi^2$ -тест).

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ прием ГТ в анамнезе до оперативного лечения имели 16,0% (13/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ – 36,8% (7/19) пациенток. Полученные различия между исследуемыми группами пациенток являются статистически значимыми ( $p=0,041$ ,  $\chi^2$ -тест). Зависимость уровня рецидивирования ЭКЯ от приема ГТ в анамнезе до оперативного лечения исследована ROC-анализом. Данная модель обладала низкой чувствительностью ( $Se=36,84\%$ ) и высокой специфичностью ( $Sp=83,95\%$ ). Показатель  $AUC=0,604$  (95% ДИ: 0,486-0,722,  $p=0,085$ ).

Среди пациенток без рецидива ЭКЯ отягощенную наследственность по эндометриозу среди ближайших родственниц по материнской линии имели 12,3% (10/81) пациенток, среди пациенток с рецидивом ЭКЯ – 26,3% (5/19) пациенток ( $p=0,125$ ,  $\chi^2$ -тест).

Результаты проведенного исследования представлены в Таблице 18.

Таблица 18.

Клинико-anamnestическая характеристика пациенток исследуемых групп

Параметр	Пациентки без рецидива ЭКЯ (n=81)	Пациентки с рецидивом ЭКЯ (n=19)	P-уровень значимости
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )*	20,7 (18,9-22,5)	21,0 (20,3-24,0)	0,259
Возраст менархе (годы)*	13 (12-14)	13,5 (12-14,5)	0,253
Продолжительность менструального цикла (дни)*	28 (28-30)	29 (28-31)	0,850
Длительность менструации (дни)*	5 (4,8-5,5)	5,5 (5-6)	0,084
Возраст во время оперативного вмешательства (годы)**	31,5±5,1	31,5±6,3	0,959
Суммарный диаметр ЭКЯ (см)**	5,00±2,70	8,63±4,97	<b>&lt;0,0001</b>
Двухсторонние ЭКЯ***	38,3% (31)	42,1% (8)	0,758
I-II стадия***	44,4% (36)	15,8% (3)	<b>0,021</b>
III-IV стадия***	55,6% (45)	84,2% (16)	<b>0,021</b>
Оперативные вмешательства по поводу эндометриоза в анамнезе***	11,1% (9)	47,4% (9)	<b>0,00021</b>
Глубокий инфильтративный эндометриоз***	33,3% (27)	26,3% (5)	0,555
Эндометриоидные очаги на брюшине малого таза***	86,4% (70)	68,4% (13)	0,060
Аденомиоз***	34,6% (28)	52,6% (10)	0,144
Спаечный процесс***	67,9% (55)	73,7% (14)	0,624
Хронические тазовые боли до оперативного лечения***	64,2% (52)	63,2% (12)	0,932
Дисменорея до оперативного лечения***	46,8% (38)	36,8% (7)	0,427
ГТ до оперативного лечения***	16,0% (13)	36,8% (7)	<b>0,041</b>
Отягощенная	12,3% (10)	26,3% (5)	0,125



наследственность по эндометриозу***			
--	--	--	--

\*данные представлены как медиана и интерквартильный размах, U-тест Манна-Уитни;

\*\*данные представлены как среднее значение±стандартное отклонение, t-тест Стьюдента;

\*\*\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

Таким образом, пациентки с рецидивом ЭКЯ имели больший суммарный диаметр ЭКЯ и более выраженную стадию распространения эндометриоза, чаще имели оперативные вмешательства по поводу эндометриоза в анамнезе и чаще получали ГТ до оперативного лечения.

Проведен многофакторный анализ оценки вероятности рецидивирования ЭКЯ в течение 1,5 лет после оперативного лечения в зависимости от выявленных факторов. В модель были включены факторы, выявленные в ходе проведения однофакторного анализа.

При проведении многофакторного анализа с помощью метода логистической регрессии было выявлено, что значимое влияние на рецидивирование ЭКЯ в послеоперационном периоде оказывали: суммарный диаметр ЭКЯ и наличие оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе (AUC=0,863, 95%ДИ: 0,774-0,951,  $p=0,045$ ; ОШ<sub>кор</sub>(РЭКЯ) в зависимости от суммарного диаметра ЭКЯ = 1,42, 95%ДИ=1,171-1,731; ОШ<sub>кор</sub>(РЭКЯ) в зависимости от наличия оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе = 13,768; 95%ДИ=3,630-52,222).

При включении в модель выше указанных предикторов в виде непрерывных величин была получена следующая формула прогноза рецидивирования ЭКЯ:

$$P(\text{РЭКЯ}) = \left( \frac{1}{1 + e^{-z}} \right)$$

где P (РЭКЯ) – вероятность развития рецидива ЭКЯ; e – основание натурального логарифма ( $e = 2,72$ ); z – уравнение линейной регрессии, вида  $z = w_0 + w_1 x_1 + w_2 x_2 + \dots + w_n x_n$ , рассчитанное ниже:

$z = 0,353 \times \text{суммарный диаметр ЭКЯ} + 2,622 \times \text{оперативные вмешательства по поводу эндометриоза в анамнезе (1-да, 0-нет)} - 4,549$

Чувствительность для данного уравнения в прогнозировании рецидивирования ЭКЯ составила 93,8%; специфичность – 47,4%; диагностическая точность – 85,0%, AUC = 0,863.

Например, у пациентки с суммарным диаметром ЭКЯ 7,0 см и наличием оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе вероятность развития рецидива ЭКЯ согласно данной формуле составляет:

$$P(\text{РЭКЯ}) = \left( \frac{1}{1 + e^{-(0,353 \times 7,0 + 2,622 \times 1 - 4,549)}} \right) = 0,6333$$

Таким образом, вероятность развития рецидива ЭКЯ у пациентки с суммарным диаметром ЭКЯ 7,0 см и наличием оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе составляет 63,33%.

У пациентки с суммарным диаметром ЭКЯ 3,5 см и отсутствием оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе вероятность развития рецидива ЭКЯ согласно данной формуле составляет:

$$P(\text{РЭКЯ}) = \left( \frac{1}{1 + e^{-(0,353 \times 3,5 + 2,622 \times 0 - 4,549)}} \right) = 0,0352$$

Вероятность развития рецидива ЭКЯ у пациентки с суммарным диаметром ЭКЯ 3,5 см и отсутствием оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе составляет 3,52%.

Таким образом, предложенная формула позволяет прогнозировать рецидивирование ЭКЯ после оперативного лечения и может быть использована в клинической практике для оптимизации тактики ведения пациенток с ЭКЯ в послеоперационном периоде.

### 3.3 Генетическая предрасположенность к наружному генитальному эндометриозу

Для выявления ассоциации генотипа и риска развития различных форм НГЭ исследованы некоторые полиморфные локусы (rs4703908:G>C, rs10859871:A>C, rs10965235:C>A) генов *ZNF366*, *VEZT* и *CDKN2B-AS*.

В зависимости от формы заболевания 188 пациенток с НГЭ были разделены на три группы: 80 пациенток с ЭКЯ, 73 пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом и 35 пациенток с эндометриозом брюшины малого таза. Группу сравнения составили 80 пациенток без эндометриоза. При проведении многофакторного анализа клинико-анамнестической характеристики пациенток исследуемых групп не было выявлено конфаундинг-факторов.

Распределение частот генотипов для всех полиморфизмов в группе сравнения соответствовало ожидаемым частотам генотипов равновесного распределения по закону Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест). Полученные данные по частотам встречаемости генотипов и аллелей в группе сравнения соответствуют данным по Европе ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест). Некоторые незначительные различия можно связать со спецификой выборки исследуемой группы сравнения (наличие данных в европейской популяции, в том числе, по мужчинам, а также отсутствие строгого отбора по признаку отсутствия эндометриоза).

Полученные данные о распределении частот генотипов и аллелей у пациенток исследуемых групп, а также данные о частотах встречаемости генотипов и аллелей в европейской популяции (данные сайта <http://www.ensembl.org/index.html>) представлены в Таблице 19.

Таблица 19.

Распределение генотипов и аллелей полиморфных локусов генов *ZNF366*, *VEZT* и *CDKN2B-AS*  
в исследуемых группах пациенток

SNP	Аллели и генотип		Европеоиды, проект «1000 геномов»** (n=503)	Группа сравнения (n=80)	Пациентки с ЭКЯ (n=80)	Пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом (n=73)	Пациентки с эндометриозом брюшины малого таза (n=35)
<i>ZNF366</i> (rs4703908: G>C)	аллель	C	78,6% (791)	81,2% (130)	75,6% (121)	74,7% (109)	74,3% (52)
		G	21,4% (215)	18,8% (30)	24,4% (39)	25,3% (37)	25,7% (18)
	генотип	CC	62,6% (315)	68,7% (55)	57,5% (46)	54,8% (40)	57,1% (20)
		CG	32% (161)	25,0% (20)	36,3% (29)	39,7% (29)	34,3% (12)
		GG	5,4% (27)	6,3% (5)	6,2% (5)	5,5% (4)	8,6% (3)
<i>VEZT</i> (rs10859871:A>C)	аллель	A	69,4% (698)	76,2% (122)	60,6% (97)	58,2% (85)	60,0% (42)
		C	30,6% (308)	23,8% (38)	39,4% (63)	41,8% (61)	40,0% (28)
	генотип	AA	47,5% (239)	57,5% (46)	43,8% (35)	41,1% (30)	40,0% (14)
		AC	43,7% (220)	37,5% (30)	33,7% (27)	34,2% (25)	40,0% (14)
		CC	8,7% (44)	5,0% (4)	22,5% (18)	24,7% (18)	20,0% (7)
<i>CDKN2B-AS</i> (rs10965235:C>A)	аллель	A	0,2% (2)	0,6% (1)	1,2% (2)	2,1% (3)	1,4% (1)
		C	99,8% (1004)	99,4% (159)	98,8% (158)	97,9% (143)	98,6% (69)
	генотип	AA	0% (0)	0% (0)	0% (0)	1,4% (1)	0% (0)
		AC	0,4% (2)	1,3% (1)	2,5% (2)	1,4% (1)	2,9% (1)
		CC	99,6% (501)	98,8% (79)	97,5% (78)	97,2% (71)	97,1% (34)

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток;

\*\*результаты европеоидов согласно данным сайта <http://www.ensembl.org/index.html>.

Частоты встречаемости генотипов и аллелей при различных формах НГЭ сопоставлены с частотами встречаемости генотипов и аллелей в группе сравнения.

Выявлена положительная ассоциация гетерозиготного генотипа CG локуса rs4703908 и риска развития ЭКЯ (ОШ=1,706; 95%ДИ: 0,863-3,371; p=0,123), глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=1,977; 95%ДИ: 0,992-3,942; p=0,051) и эндометриоза брюшины малого таза (ОШ=1,565; 95%ДИ: 0,661-3,707; p=0,307) по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения. Однако во всех случаях p>0,05.

Выявлена положительная ассоциация гомозиготного генотипа CC локуса rs10859871 и риска развития ЭКЯ (ОШ=5,516; 95%ДИ: 1,774-17,147; p=0,0013), глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=6,218; 95%ДИ: 1,993-19,397; p=0,00054) и эндометриоза брюшины малого таза (ОШ=4,750; 95%ДИ: 1,291-17,476; p=0,012) по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения (Рисунок 15). Отмечается отрицательная ассоциация гомозиготного генотипа AA локуса rs10859871 и риска развития ЭКЯ (ОШ=0,575; 95%ДИ: 0,307-1,075; p=0,082), глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=0,516; 95%ДИ: 0,271-0,981; p=0,043) и эндометриоза брюшины малого таза (ОШ=0,493; 95%ДИ: 0,220-1,106; p=0,084) по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения.

Таким образом, выявлена положительная ассоциация гомозиготного генотипа CC локуса rs10859871 и риска развития НГЭ (ОШ=5,634; 95%ДИ: 1,949-16,288; p=0,00043) по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения. Выявлена отрицательная ассоциация гомозиготного генотипа AA локуса rs10859871 и риска развития НГЭ (ОШ=0,536; 95%ДИ: 0,315-0,910; p=0,020) по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения.

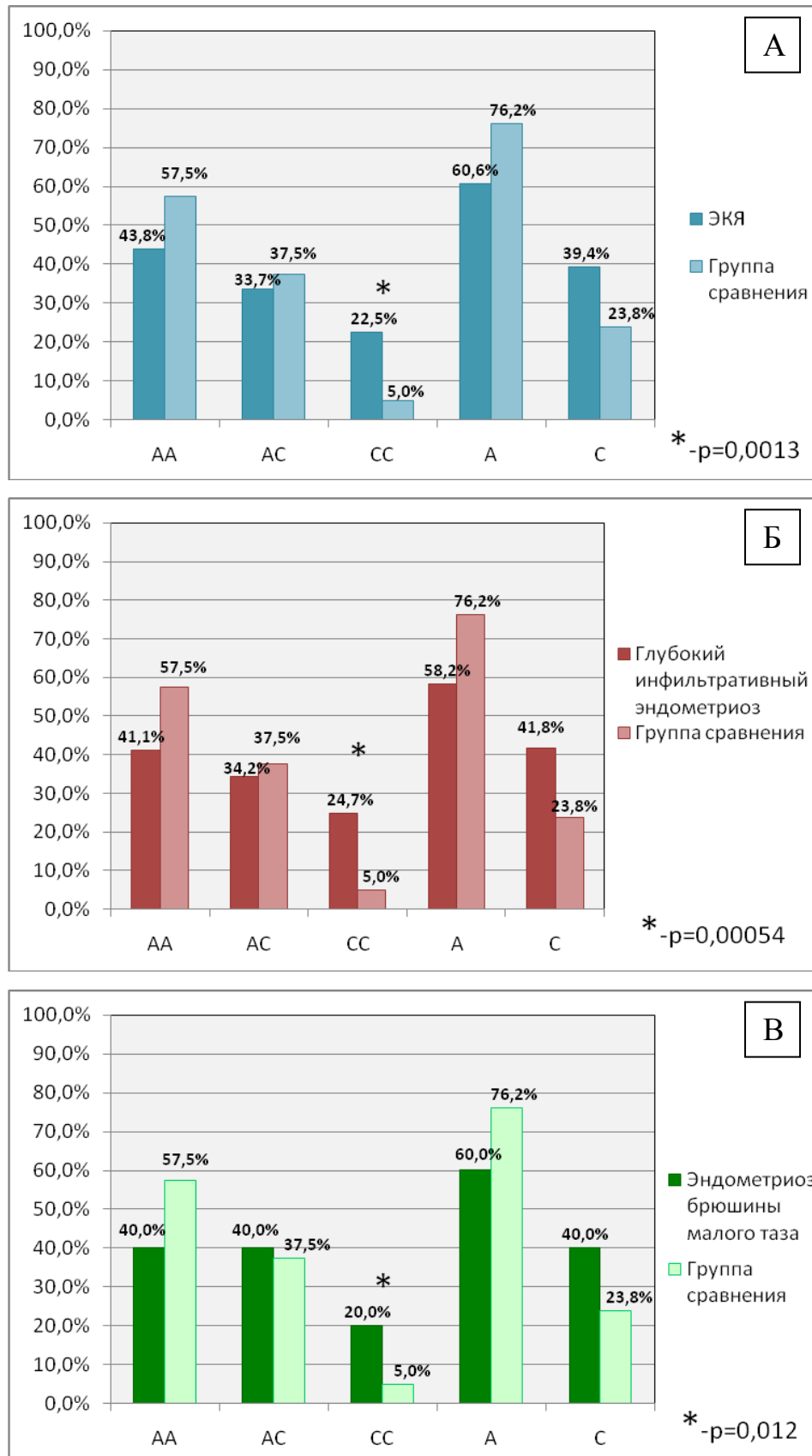


Рисунок 15. Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфного локуса rs10859871 в группах пациенток с ЭКЯ (А), глубоким инфильтративным эндометриозом (Б) и эндометриозом брюшины малого таза (В).

В группах пациенток с различными формами НГЭ (ЭКЯ, глубокий инфильтративный эндометриоз и эндометриоз брюшины малого таза) значительно чаще встречается гомозиготный генотип СС локуса rs10859871 и значительно реже встречается гомозиготный генотип АА локуса rs10859871 по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения. Полученные результаты свидетельствуют об аутосомно-рецессивной модели наследования.

Ассоциаций между частотой встречаемости генотипов и аллелей локуса rs10965235 и риском развития НГЭ не выявлено.

### **3.4 Частота и структура патологических изменений в эутопическом эндометрии пациенток с наружным генитальным эндометриозом**

Для оценки частоты и структуры патологических изменений в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ проведено гистологическое и иммуногистохимическое исследование эутопического эндометрия 268 пациенток. Биоматериал исследуемых пациенток разделен на несколько групп: I группа – эутопический эндометрий 188 пациенток с НГЭ, II группа – эутопический эндометрий 80 пациенток без эндометриоза (группа сравнения). Клинико-анамнестическая характеристика пациенток исследуемых групп представлена в разделе 3.1 «Клинико-анамнестическая характеристика исследуемых пациенток».

Соскобы эутопического эндометрия получены непосредственно во время операции в результате проведения гистероскопии и диагностического выскабливания слизистой полости матки. При гистологическом исследовании полученных образцов эутопического эндометрия выявлено, что все они соответствуют средней и поздней фазам стадии пролиферации и средней фазе стадии секреции.

Для диагностики хронического эндометрита пользовались рекомендациями ВОЗ. В тех случаях, когда с помощью светового микроскопа верифицировать плазматические клетки не удавалось, а остальные морфологические признаки

хронического эндометрита присутствовали, проводилось исследование экспрессии CD138. Количество позитивно окрашенных плазматических клеток оценивалось на 10 неперекрывающихся полях зрения при увеличении  $\times 400$ . Диагноз «хронический эндометрит» ставился, если хотя бы одна плазматическая клетка была идентифицирована при наличии других морфологических критериев данного заболевания.

Для диагностики гиперплазии эндометрия пользовались классификацией ВОЗ 2014 года. В тех случаях, когда верифицирование атипичии эпителия желез в патологическом участке от эпителия желез в окружающем эндометрии было затруднительным, а также при увеличении площади железистого компонента по сравнению со стромальным более чем на 50%, проводилось исследование экспрессии гена-супрессора *PTEN*. Данный маркер в норме экспрессируется как в эпителиальном, так и в стромальном компоненте, причем окраска может носить ядерный и/или цитоплазматический характер при применении используемого в настоящем исследовании клон. При полной утрате экспрессии данного маркера в железистом компоненте можно судить о клональности поражения, что помогает выявить атипическую гиперплазию эндометрия.

Частота патологических изменений в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ (45,7%) статистически значимо выше по сравнению с пациентками без эндометриоза (23,8%) ( $p=0,00074$ ,  $\chi^2$ -тест). Данные о частоте и структуре патологических изменений в эутопическом эндометрии пациенток исследуемых групп представлены в Таблице 20.

Таблица 20.

Частота и структура патологических изменений в эутопическом эндометрии пациенток исследуемых групп

Параметр	Пациентки с НГЭ (n=188)	Пациентки без эндометриоза (n=80)	P-уровень значимости
Хронический эндометрит	20,7% (39)	10,0% (8)	<b>0,034</b>
Полип эндометрия	20,7% (39)	8,8% (7)	<b>0,017</b>
Гиперплазия эндометрия	4,3% (8)	5,0% (4)	0,787



Гиперплазия эндометрия без атипии	3,7% (7)	5,0% (4)	0,630
Атипическая гиперплазия эндометрия	0,5% (1)	0% (0)	0,513
Патологические изменения	45,7% (86)	23,8% (19)	<b>0,00074</b>

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

Хронический эндометрит (Рисунок 16) выявлен у 20,7% (39/188) пациенток с НГЭ и у 10,0% (8/80) пациенток в группе сравнения. Частота встречаемости хронического эндометрита статистически значимо выше в группе пациенток с НГЭ по сравнению с группой пациенток без эндометриоза ( $p=0,034$ ,  $\chi^2$ -тест).

Полип эндометрия выявлен у 20,7% (39/188) пациенток с НГЭ и у 8,8% (7/80) пациенток в группе сравнения. Частота встречаемости полипов эндометрия статистически значимо выше в группе пациенток с НГЭ по сравнению с группой пациенток без эндометриоза ( $p=0,017$ ,  $\chi^2$ -тест).

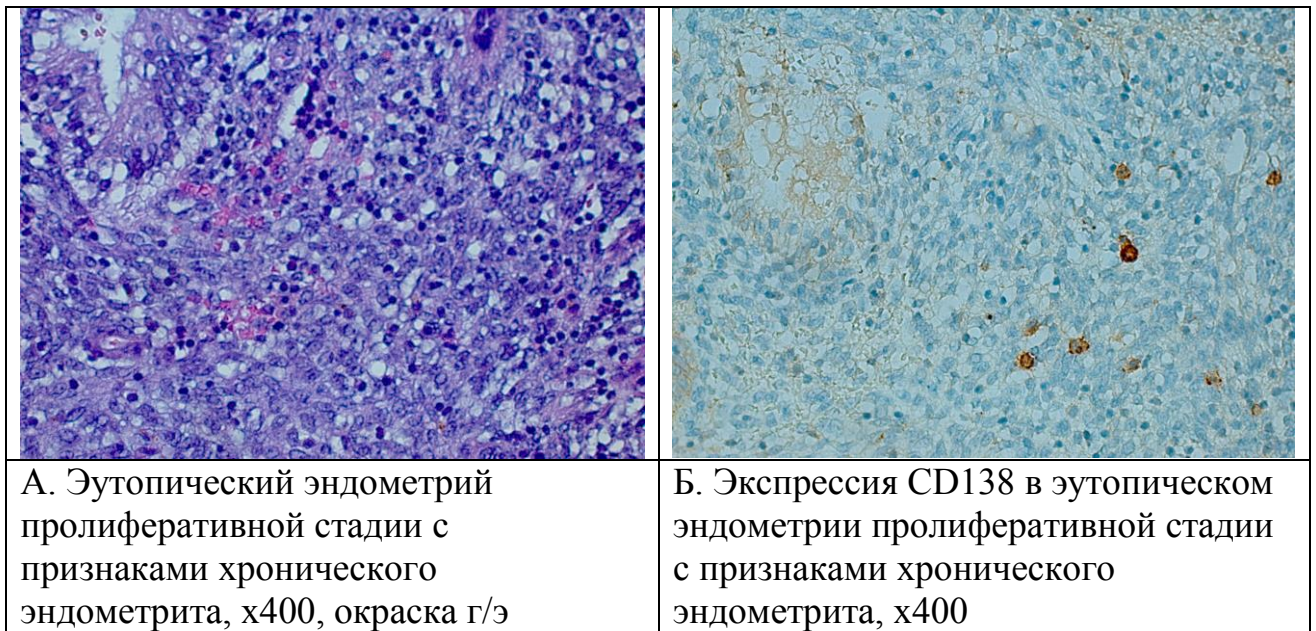


Рисунок 16. Эутопический эндометрий пролиферативной стадии с признаками хронического эндометрита.

Гиперплазия эндометрия (Рисунок 17) выявлена у 4,3% (8/188) пациенток с НГЭ и у 5,0% (4/80) пациенток в группе сравнения ( $p=0,787$ ,  $\chi^2$ -тест). Структура гиперплазии эндометрия представлена гиперплазией эндометрия без атипии и атипической гиперплазией эндометрия.

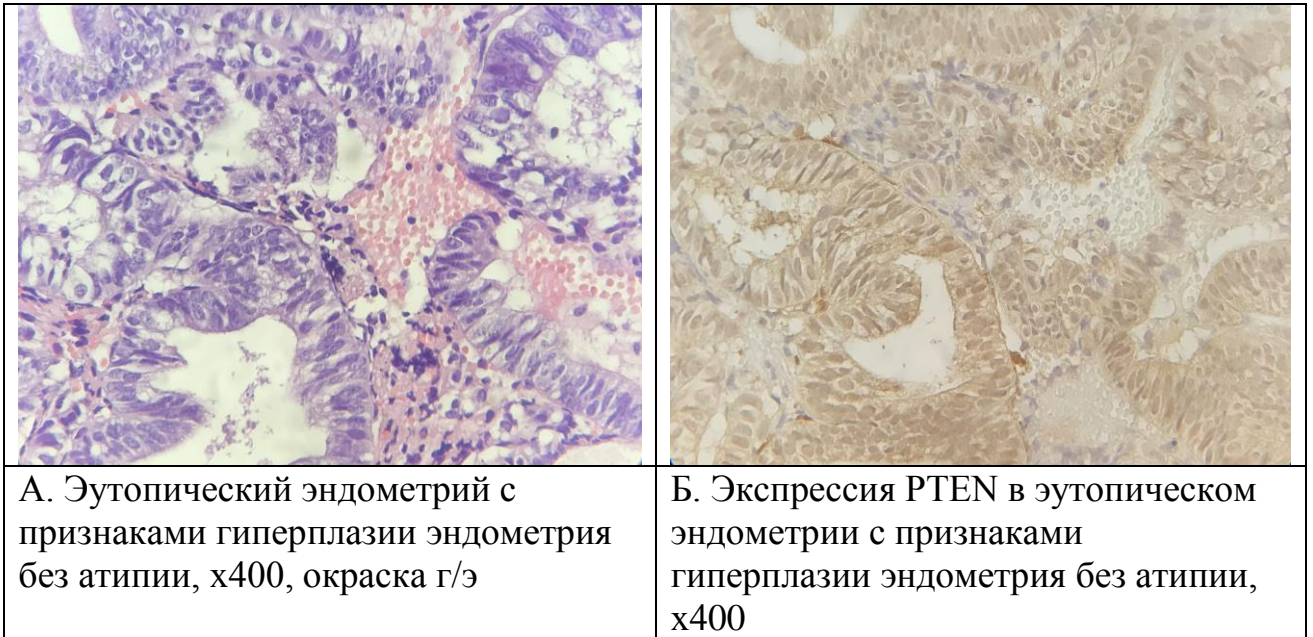


Рисунок 17. Эутопический эндометрий с признаками гиперплазии эндометрия без атипии.

Эутопический эндометрий пациенток с НГЭ (n=188) разделен на две подгруппы в зависимости от наличия/отсутствия аденомиоза: Ia подгруппа – эутопический эндометрий от 53 пациенток с НГЭ в сочетании с аденомиозом (1-2 стадия аденомиоза); Ib подгруппа – эутопический эндометрий от 135 пациенток с НГЭ без аденомиоза.

В подгруппе пациенток с НГЭ в сочетании с аденомиозом хронический эндометрит выявлен у 22,6% (12/53) пациенток, полип эндометрия – у 20,8% (11/53) пациенток и гиперплазия эндометрия – у 5,7% (3/53) пациенток. В подгруппе пациенток с НГЭ без аденомиоза хронический эндометрит выявлен у 20,0% (27/135) пациенток, полип эндометрия – у 20,7% (28/135) пациенток и гиперплазия эндометрия – у 3,7% (5/135) пациенток. Полученные различия не являются статистически значимыми ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест) (Таблица 21).

Таблица 21.

Частота и структура патологических изменений в эутопическом эндометрии в зависимости от наличия/отсутствия аденомиоза

Параметр	Подгруппа пациенток с	Подгруппа пациенток с	P-уровень значимости
----------	-----------------------	-----------------------	----------------------

	НГЭ в сочетании с аденомиозом (n=53)	НГЭ без аденомиоза (n=135)	
Хронический эндометрит	22,6% (12)	20,0% (27)	0,688
Полип эндометрия	20,8% (11)	20,7% (28)	0,998
Гиперплазия эндометрия	5,7% (3)	3,7% (5)	0,550
Гиперплазия эндометрия без атипии	5,7% (3)	3,0% (4)	0,380
Атипическая гиперплазия эндометрия	0% (0)	0,7% (1)	0,530
Патологические изменения	49,1% (26)	44,4% (60)	0,568

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

Частота и структура патологических изменений в эндометрии пациенток с НГЭ (n=188) проанализирована в зависимости от стадии распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г.

Статистически значимых различий по всем исследуемым параметрам между ранними стадиями (I+II) и поздними стадиями (III+IV) эндометриоза не выявлено ( $p>0,05$ ,  $\chi^2$ -тест) (Таблица 22).

Таблица 22.

Частота и структура патологических изменений в эндометрии в зависимости от стадии распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г.

Параметр	Стадия распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г.						P-уровень значимости
	I (n=25)	II (n=73)	I+II (n=98)	III (n=69)	IV (n=21)	III+IV (n=90)	
Хронический эндометрит	24,0% (6)	16,4% (12)	18,4% (18)	23,2% (16)	23,8% (5)	23,3% (21)	0,402
Полип эндометрия	12,0% (3)	23,3% (17)	20,4% (20)	23,2% (16)	19,0% (4)	22,2% (20)	0,761
Гиперплазия эндометрия	4,0% (1)	5,5% (4)	5,1% (5)	4,3% (3)	0% (0)	3,3% (3)	0,548
Всего	40,0% (10)	45,2% (33)	43,9% (43)	50,7% (35)	42,9% (9)	48,9% (44)	0,491

\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

### **3.5 Исследование транскриптома эутопического эндометрия пациенток с наружным генитальным эндометриозом при помощи микроматриц (mRNA microarray analysis)**

Проведено исследование транскриптома (mRNA microarray analysis) эутопического эндометрия пациенток с НГЭ и пациенток без эндометриоза.

Сбор образцов эутопического эндометрия проводили при помощи аспирационной биопсии с использованием кюретки Pipelle de Cornie непосредственно во время операции до проведения гистероскопического исследования с последующим выскабливанием эндометрия и гистологическим исследованием полученного материала. Материал помещали в пробирки с RNA later. Во всех случаях хранение и выделение РНК проводили в одинаковых условиях (см. главу 2.3.6 «Молекулярно-генетические методы исследования»).

На основании гистологического исследования эутопического эндометрия было отобрано 14 образцов эутопического эндометрия средней и поздней фаз стадии пролиферации без признаков патологии гиперпластического и воспалительного характера. Таким образом, проведено транскриптомное исследование эутопического эндометрия от 7 пациенток с НГЭ (основная группа) и 7 пациенток без эндометриоза (группа сравнения).

У всех пациенток с НГЭ диагностированы ЭКЯ (от 1,0 до 13,5 см в диаметре), у 85,7% (6/7) выявлены эндометриоидные очаги на брюшине малого таза, у 42,9% (3/7) также диагностирован глубокий инфильтративный эндометриоз и у 42,9% (3/7) – аденомиоз 1-2 стадии распространения. По классификации ASRM 1996 г. I-II стадия заболевания выявлена у 42,9% (3/7) пациенток, III-IV стадия – у 57,1% (4/7) пациенток.

Группу сравнения составили 7 пациенток, у которых по данным УЗИ органов малого таза и лапароскопического исследования не было выявлено эндометриоза, а так же не было оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе.

Клинико-anamнестическая характеристика пациенток исследуемых групп статистически значимо не различалась ( $p>0,05$ ) (Таблица 23). По данным многофакторного анализа клинико-anamнестической характеристики пациенток исследуемых групп не было выявлено конфаундинг-факторов.

Таблица 23.

## Клинико-anamнестическая характеристика пациенток исследуемых групп

Группа	Пациентки с НГЭ (n=7)	Пациентки без эндометриоза (n=7)	P-уровень значимости
Параметр			
Возраст (годы)*	29,6±4,5	31,7±5,0	0,371
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )**	21,2 (19,0-23,5)	23,0 (19,0-25,2)	0,338
Возраст менархе (годы)**	13 (12-13,5)	13 (12-13)	0,655
Продолжительность менструального цикла (дни)**	28 (28-28)	28 (28-28,5)	0,609
Длительность менструации (дни)**	5,5 (5-5,5)	4,5 (3,6-5,8)	0,307
Миома матки***	0% (0)	14,3% (1)	0,299
Спаечный процесс***	85,7% (6)	28,6% (2)	<b>0,031</b>
Форма эндометриоза			
ЭКЯ***	100% (7)	0% (0)	<b>&lt;0,001</b>
Глубокий инфильтративный эндометриоз***	42,9% (3)	0% (0)	0,051
Эндометриозидные очаги на брюшине малого таза***	85,7% (6)	0% (0)	<b>0,001</b>
Аденомиоз***	42,9% (3)	0% (0)	0,051

\*данные представлены как среднее значение±стандартное отклонение, U-тест Манна-Уитни;

\*\*данные представлены как медиана и интерквартильный размах, U-тест Манна-Уитни;

\*\*\*данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток,  $\chi^2$ -тест.

При сравнении транскриптомов эутопического эндометрия пролиферативной стадии пациенток с НГЭ и эутопического эндометрия пролиферативной стадии пациенток без эндометриоза из 14318 транскриптов выявлено повышение экспрессии 27 генов и понижение экспрессии 17 генов (Таблица 24). Порог отсечения составил 2.

Таблица 24.

Гены, различно экспрессирующиеся в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ по сравнению с эутопическим эндометрием пролиферативной стадии пациенток без эндометриоза

Аббревиатура	Полное название гена	Изменение экспрессии	P-уровень значимости
<i>FOS</i>	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	18,95	<b>0,000003</b>
<i>EGR-1</i>	early growth response 1	10	<b>0,000137</b>
<i>FOSB</i>	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B	9,04	<b>0,000018</b>
<i>DUSP1</i>	dual specificity phosphatase 1	6,96	<b>0,000320</b>
<i>ZFP36</i>	zinc finger protein 36, C3H type, homolog (mouse)	5,94	<b>0,000421</b>
<i>JUNB</i>	jun B proto-oncogene	4,2	<b>0,001088</b>
<i>JUN</i>	jun proto-oncogene	3,79	<b>0,000551</b>
<i>HIST2H2BE</i>	histone cluster 2, H2be	3,61	<b>0,006948</b>
<i>IER3</i>	immediate early response 3	3,48	<b>0,014083</b>
<i>IER2</i>	immediate early response 2	3,43	<b>0,000051</b>
<i>CLDN4</i>	claudin 4	3,27	<b>0,022195</b>
<i>ATF3</i>	activating transcription factor 3	3,05	<b>0,029934</b>
<i>BTG2</i>	BTG family, member 2	2,91	<b>0,001786</b>
<i>ACSM2B</i>	acyl-CoA synthetase medium-chain family member 2B	2,89	<b>0,035708</b>
<i>CYR61</i>	cysteine-rich, angiogenic inducer, 61	2,52	<b>0,001410</b>
<i>DUSP2</i>	dual specificity phosphatase 2	2,39	<b>0,002263</b>
<i>NR4A1</i>	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1	2,37	<b>0,000998</b>
<i>PPP1R15A</i>	protein phosphatase 1, regulatory subunit 15A	2,3	<b>0,001436</b>
<i>KLF6</i>	Kruppel-like factor 6	2,27	<b>0,004880</b>
<i>CPN1</i>	carboxypeptidase N, polypeptide 1	2,24	<b>0,014702</b>
<i>NSUN5P2</i>	NOP2/Sun domain family, member 5 pseudogene 2; NOP2/Sun domain family, member 5 pseudogene 1	2,19	<b>0,014394</b>

<i>SOCS3</i>	suppressor of cytokine signaling 3	2,17	<b>0,015562</b>
<i>CYP2A7</i>	cytochrome P450, family 2, subfamily A, polypeptide 7, 6, 13	2,16	<b>0,047459</b>
<i>CEMP1</i>	cementum protein 1; amidohydrolase domain containing 2	2,08	<b>0,005791</b>
<i>EEF1A1</i>	eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1	2,08	<b>0,009515</b>
<i>GADD45B</i>	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	2,07	<b>0,015011</b>
<i>IGHMBP2</i>	immunoglobulin mu binding protein 2	2,05	<b>0,007404</b>
<i>COX20</i>	COX20 Cox2 chaperone homolog ( <i>S. cerevisiae</i> ); HNRNPU antisense RNA 1 (non-protein coding)	-2,01	<b>0,016360</b>
<i>RAP1B</i>	RAP1B, member of RAS oncogene family	-2,03	<b>0,034064</b>
<i>RSPO3</i>	R-spondin 3	-2,08	<b>0,000625</b>
<i>EDIL3</i>	EGF-like repeats and discoidin I-like domains 3	-2,1	<b>0,007378</b>
<i>CD36</i>	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	-2,12	<b>0,017189</b>
<i>KITLG</i>	KIT ligand	-2,13	<b>0,043341</b>
<i>FLRT2</i>	fibronectin leucine rich transmembrane protein 2	-2,16	<b>0,001913</b>
<i>AVPR1A</i>	arginine vasopressin receptor 1A	-2,18	<b>0,036755</b>
<i>HSD17B7P2</i>	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 7 pseudogene 2; hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 7; discoidin domain receptor tyrosine kinase 2	-2,19	<b>0,029552</b>
<i>WTH3DI</i>	RAB6C-like; RAB6C, member RAS oncogene family; RAB6A, member RAS oncogene family	-2,21	<b>0,041263</b>
<i>FAT4</i>	FAT tumor suppressor homolog 4 ( <i>Drosophila</i> )	-2,24	<b>0,006158</b>
<i>PLEKHH2</i>	pleckstrin homology domain containing, family H (with MyTH4 domain) member 2	-2,27	<b>0,028251</b>
<i>KLRA1</i>	killer cell lectin-like receptor subfamily A pseudogene 1	-2,32	<b>0,010776</b>
<i>CARD16</i>	caspase recruitment domain family, member 16	-2,33	<b>0,015008</b>
<i>JPX</i>	JPX transcript, XIST activator (non-protein coding)	-3,15	<b>0,012632</b>
<i>POSTN</i>	periostin, osteoblast specific factor	-3,37	<b>0,010606</b>
<i>FOXD4L3</i>	forkhead box D4-like 3	-3,42	<b>0,025882</b>

\*ANOVA тест.

В эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ по сравнению с эутопическим эндометрием пролиферативной стадии пациенток без эндометриоза наиболее значительные различия выявлены в уровне экспрессии следующих генов: FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog (*FOS*) – повышение экспрессии в 18,95 раз ( $p=0,000003$ ), early growth response 1 (*EGR-1*) – повышение экспрессии в 10 раз ( $p=0,000137$ ), FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B (*FOSB*) – повышение экспрессии в 9,04 раза ( $p=0,000018$ ), dual specificity phosphatase 1 (*DUSP1*) – повышение экспрессии в 6,96 раз ( $p=0,000320$ ), zinc finger protein 36 (*ZFP36*) – повышение экспрессии в 5,94 раза ( $p=0,000421$ ), jun B proto-oncogene (*JUNB*) – повышение экспрессии в 4,2 раза ( $p=0,001088$ ), jun proto-oncogene (*JUN*) – повышение экспрессии в 3,79 раз ( $p=0,000551$ ), histone cluster 2, H2be (*HIST2H2BE*) – повышение экспрессии в 3,61 раз ( $p=0,006948$ ), forkhead box D4-like 3 (*FOXD4L3*) – понижение экспрессии в 3,42 раза ( $p=0,025882$ ), periostin, osteoblast specific factor (*POSTN*) – понижение экспрессии в 3,37 раз ( $p=0,010606$ ) и JPX transcript, XIST activator (non-protein coding) (*JPX*) – понижение экспрессии в 3,15 раз ( $p=0,012632$ ).

Результаты иерархического кластерного анализа по различно экспрессирующимся генам представлены на Рисунке 18. Анализ показал, что исследованные образцы распределяются по двум группам, совпадающим с выборками пациенток: в группе пациенток с НГЭ и группе пациенток без эндометриоза транскрипционная активность генов пролиферативного эндометрия внутри групп практически не отличается, а между группами обнаруживаются четкие различия.



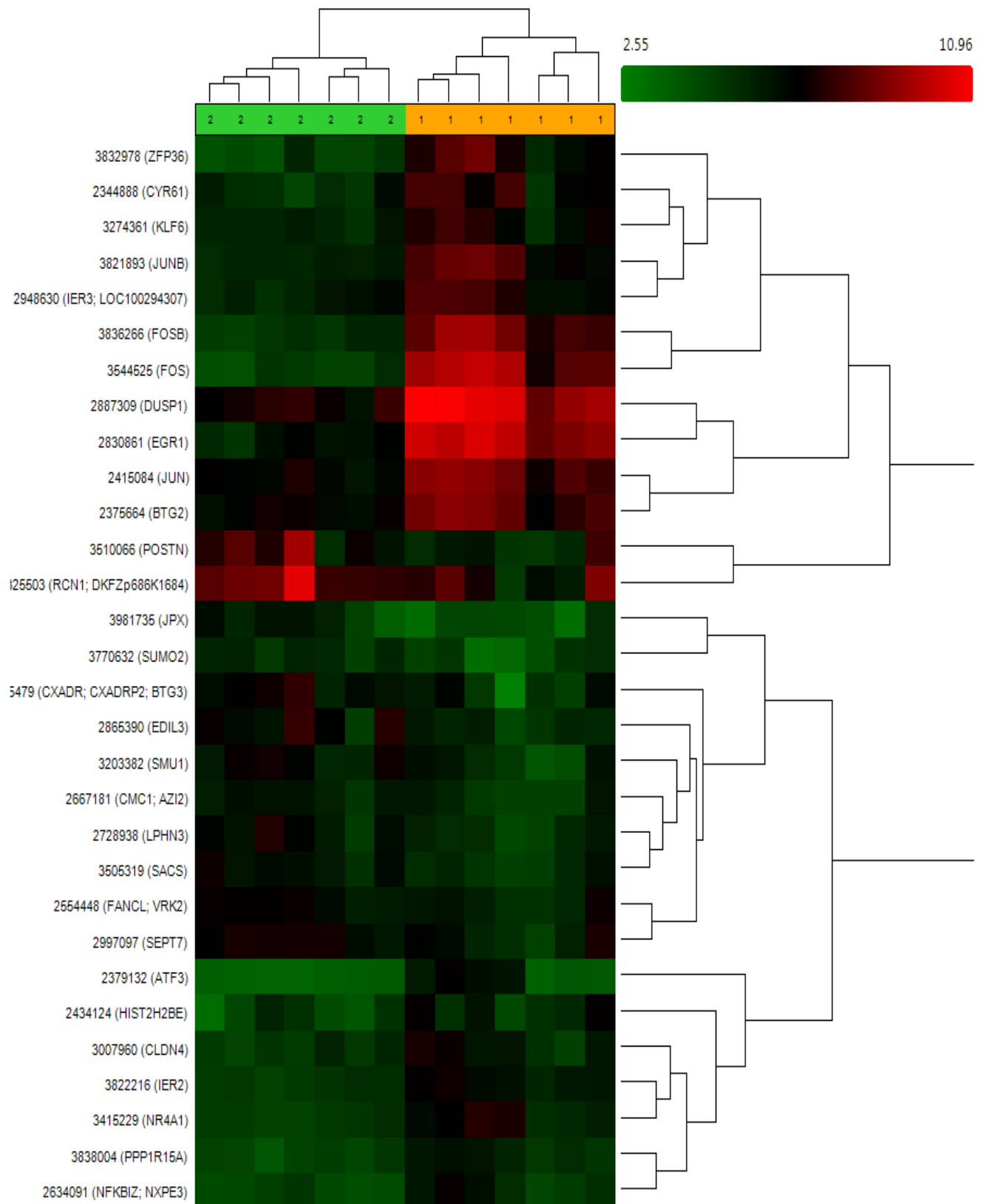


Рисунок 18. Иерархический кластерный анализ эутопического эндометрия пролиферативной стадии пациенток с НГЭ при сравнении с эутопическим эндометрием пролиферативной стадии пациенток без эндометриоза (Fold Change  $\geq 2,0$ ).

Гены, экспрессия которых повышена в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ, относятся к генам раннего ответа, белковые продукты которых относятся к AP-1 (активирующий протеин-1) семейству транскрипционных факторов, которое состоит из белков Fos- и Jun-семейств, семейству факторов транскрипции EGR, семейству белковых тирозинных фосфатаз (PTP семейство), семейству TIS11 и генам гистоновых белков. Эти гены связаны со следующими биологическими процессами: регуляцией молекулярных механизмов клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза и трансформации, онкогенной трансформацией и канцерогенезом, инициацией и, по некоторым данным, пролонгированием воспалительных реакций, ответом на стрессовые стимулы, взаимодействием с межклеточным матриксом, изменением адгезивных характеристик клетки, воздействием на гены, участвующие в регуляции клеточного цикла, а также с процессами репарации и репликации ДНК и ремоделированием хроматина.

Гены, экспрессия которых понижена в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ, кодируют белки, которые относятся к семействам транскрипционных факторов FOX, семейству каспаз, опухолевым супрессорам и выполняют важную роль в регуляции экспрессии генов, вовлеченных в клеточный рост, пролиферацию, дифференцировку, выживаемость, регуляцию адгезии и миграции эпителиальных клеток, участвуют в процессе инактивации X-хромосомы, регуляции апоптоза и опухолевой супрессии.

### **3.6 Анализ уровня мРНК кандидатных генов в эутопическом эндометрии пациенток с наружным генитальным эндометриозом**

При исследовании транскриптома эутопического эндометрия пациенток с НГЭ определены наиболее «перспективные биомаркеры» на небольшой выборке пациенток. На следующем этапе исследования проведен анализ уровней мРНК

кандидатных генов в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии при помощи количественной ОТ-ПЦР на большей популяции женщин.

Сбор образцов эутопического эндометрия проводили при помощи аспирационной биопсии с использованием кюретки Pipelle de Cornie непосредственно во время операции до проведения гистероскопического исследования с последующим выскабливанием эндометрия и гистологическим исследованием полученного материала. Материал помещали в пробирки с RNA later. Во всех случаях хранение и выделение РНК проводили в одинаковых условиях (см. главу 2.3.6 «Молекулярно-генетические методы исследования»).

На основании гистологического исследования эутопического эндометрия было отобрано 117 образцов эутопического эндометрия средней и поздней фаз стадии пролиферации без признаков патологии гиперпластического и воспалительного характера. Таким образом, проведен анализ уровней мРНК генов *FOS*, *EGR-1*, *FOSB*, *DUSP1*, *ZFP36* и *POSTN* в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии от 71 пациентки с НГЭ (основная группа) и 46 пациенток без эндометриоза (группа сравнения) при помощи количественной ОТ-ПЦР.

Клинико-anamnestическая характеристика пациенток исследуемых групп статистически значимо не различалась ( $p > 0,05$ ). По данным многофакторного анализа клинико-anamnestической характеристики пациенток исследуемых групп не было выявлено конфаундинг-факторов.

Среднее значение уровня мРНК гена *FOS* в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ составило 2,020 о.е. ( $M=0,425$ ,  $ИКР=0,088-2,144$ ), среднее значение уровня мРНК гена *FOS* в эутопическом эндометрии пациенток без эндометриоза – 0,498 о.е. ( $M=0,156$ ,  $ИКР=0,069-0,399$ ). Экспрессия гена *FOS* в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ статистически значимо выше по сравнению с эутопическим эндометрием пациенток без эндометриоза ( $p=0,013$ , U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 19).

Зависимость уровня мРНК гена *FOS* от наличия НГЭ исследована ROC-анализом (Рисунок 20). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (38,03% и 93,48% соответственно) отмечается при уровне мРНК гена *FOS* >1,481 о.е. Показатель AUC=0,636 (95%ДИ: 0,536-0,736,  $p=0,0076$ ), что характеризует качество модели как «среднее».

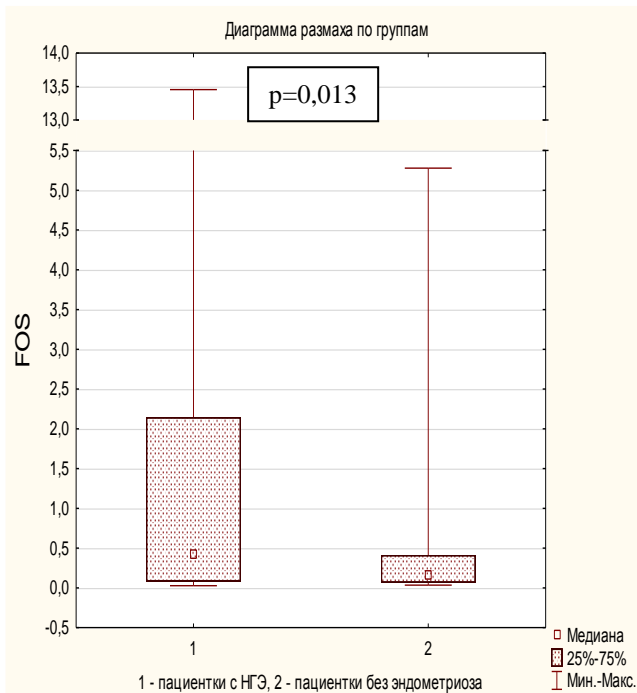


Рисунок 19. Уровень мРНК гена *FOS* в эутопическом эндометрии пациенток исследуемых групп.

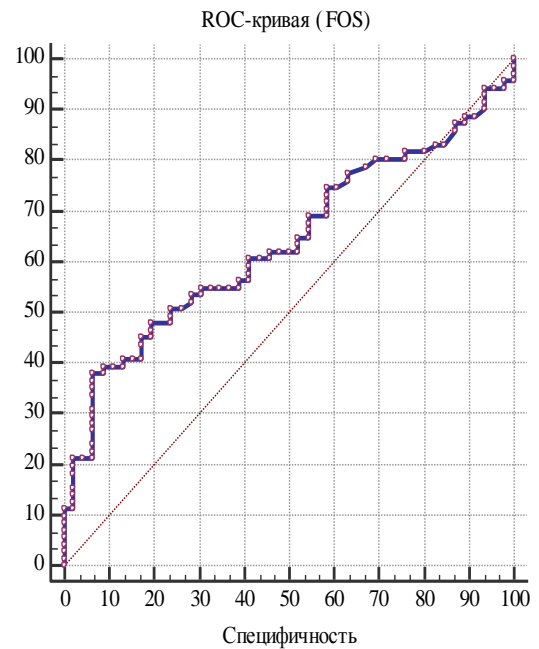


Рисунок 20. ROC-кривая уровня мРНК гена *FOS* в эутопическом эндометрии при диагностике НГЭ.

По нашим данным, тест обладает очень высокой специфичностью (93,48%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного результата теста очень высокая.

Среднее значение уровня мРНК гена *EGR-1* в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ составило 0,323 о.е. ( $M=0,088$ , ИКР=0,048-0,338), среднее значение уровня мРНК гена *EGR-1* в эутопическом эндометрии пациенток без эндометриоза – 0,128 о.е. ( $M=0,068$ , ИКР=0,036-0,129). Экспрессия гена *EGR-1* в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ статистически значимо выше по сравнению с эутопическим эндометрием пациенток без эндометриоза ( $p=0,019$ , U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 21).

Зависимость уровня мРНК гена *EGR-1* от наличия НГЭ исследована ROC-анализом (Рисунок 22). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (40,85% и 89,13% соответственно) отмечается при уровне мРНК гена *EGR-1* >0,192 о.е. Показатель AUC=0,629 (95%ДИ: 0,528-0,731, p=0,013), что характеризует качество модели как «среднее».

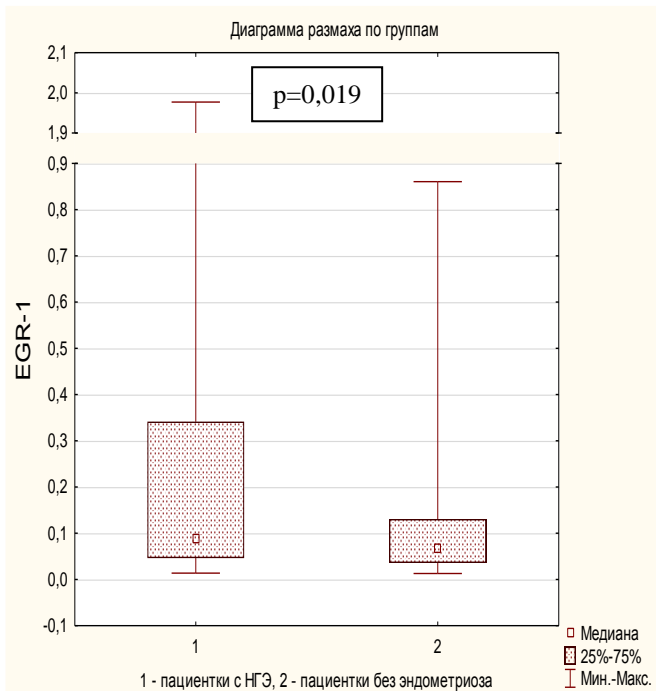


Рисунок 21. Уровень мРНК гена *EGR-1* в эутопическом эндометрии пациенток исследуемых групп.

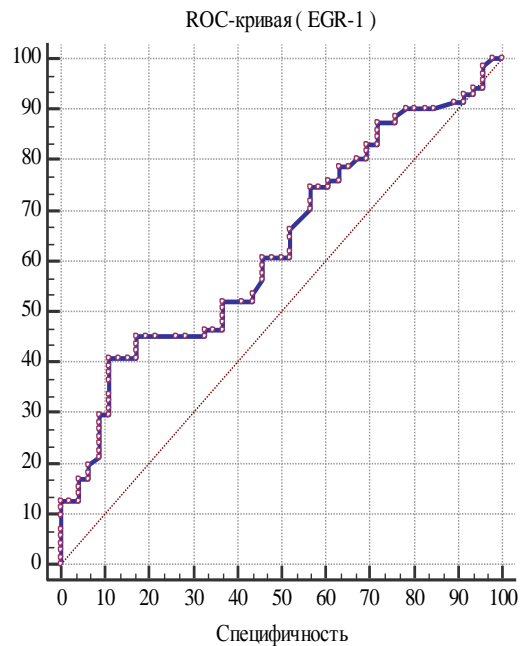


Рисунок 22. ROC-кривая уровня мРНК гена *EGR-1* в эутопическом эндометрии при диагностике НГЭ.

По нашим данным, тест обладает очень высокой специфичностью (89,13%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного результата теста очень высокая.

Среднее значение уровня мРНК гена *FOSB* в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ составило 0,346 о.е. (M=0,0077, ИКР=0,0030-0,088), среднее значение уровня мРНК гена *FOSB* в эутопическом эндометрии пациенток без эндометриоза – 0,024 о.е. (M=0,0043, ИКР=0,0026-0,0087). Экспрессия гена *FOSB* в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ статистически значимо выше по сравнению с эутопическим эндометрием пациенток без эндометриоза (p=0,035, U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 23).

Зависимость уровня мРНК гена *FOSB* от наличия НГЭ исследована ROC-анализом (Рисунок 24). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (45,07% и 82,61% соответственно) отмечается при уровне мРНК гена *FOSB*  $>0,013$  о.е. Показатель  $AUC=0,616$  (95%ДИ: 0,514-0,717,  $p=0,026$ ), что характеризует качество модели как «среднее».

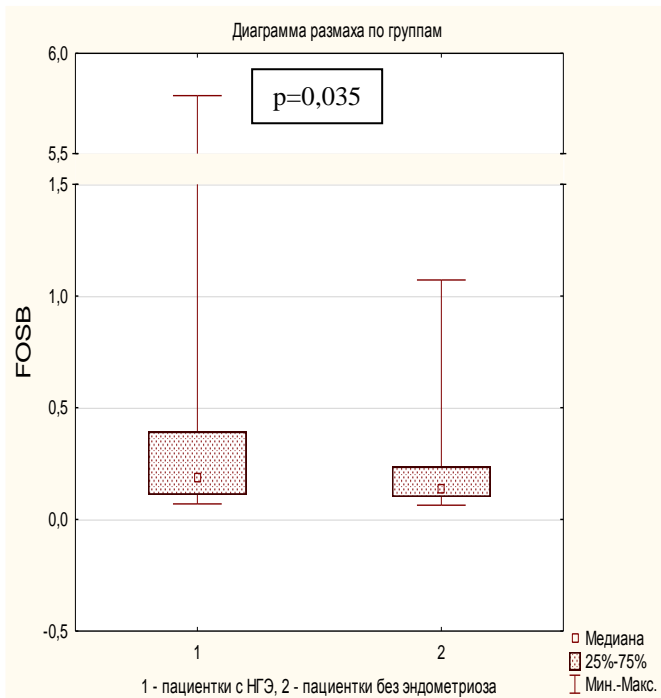


Рисунок 23. Уровень мРНК гена *FOSB* в эутопическом эндометрии пациенток исследуемых групп.

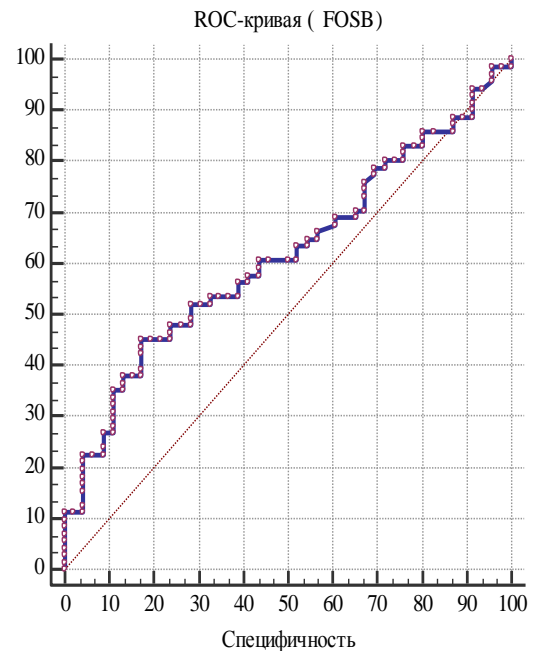


Рисунок 24. ROC-кривая уровня мРНК гена *FOSB* в эутопическом эндометрии при диагностике НГЭ.

По нашим данным, тест обладает высокой специфичностью (82,61%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного результата высокая.

Среднее значение уровня мРНК гена *ZFP36* в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ составило 0,615 о.е. ( $M=0,185$ ,  $ИКР=0,112-0,377$ ), среднее значение уровня мРНК гена *ZFP36* в эутопическом эндометрии пациенток без эндометриоза – 0,208 о.е. ( $M=0,139$ ,  $ИКР=0,102-0,234$ ). Экспрессия гена *ZFP36* в эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ статистически значимо выше по сравнению с эутопическим эндометрием пациенток без эндометриоза ( $p=0,039$ , U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 25).

Зависимость уровня мРНК гена *ZFP36* от наличия НГЭ исследована ROC-анализом (Рисунок 26). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (54,93% и 69,57% соответственно) отмечается при уровне мРНК гена *ZFP36*  $>0,165$  о.е. Показатель  $AUC=0,614$  (95%ДИ: 0,512-0,717,  $p=0,028$ ), что характеризует качество модели как «среднее».

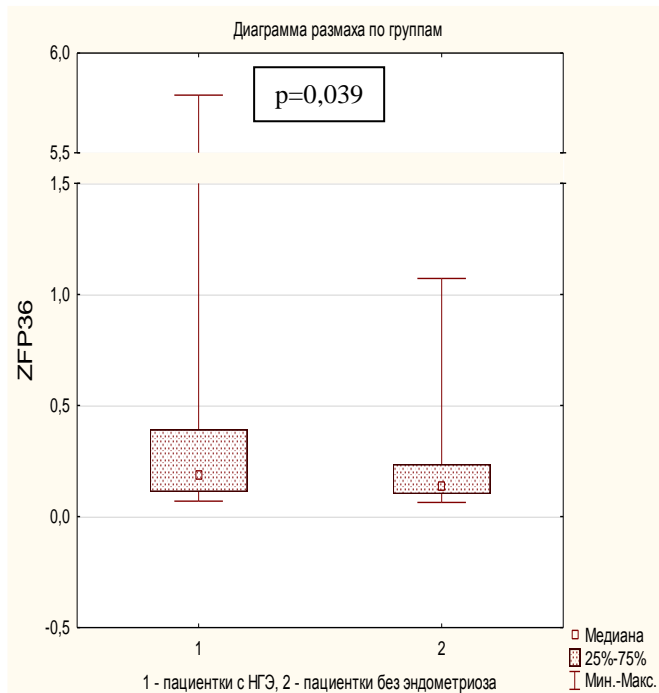


Рисунок 25. Уровень мРНК гена *ZFP36* в эутопическом эндометрии пациенток исследуемых групп.

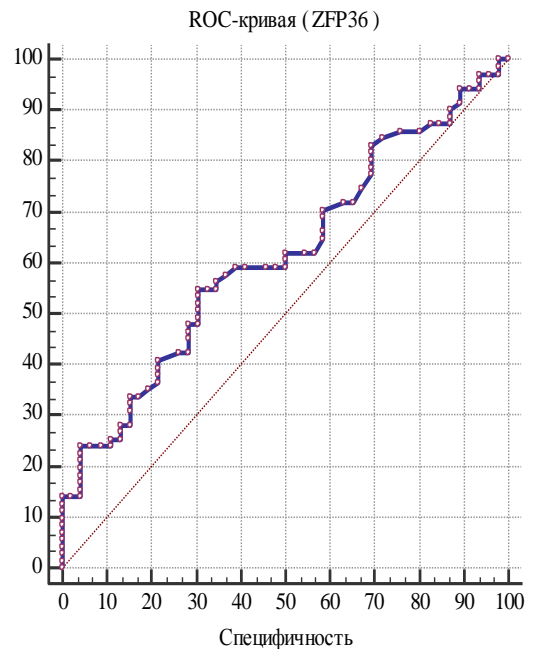


Рисунок 26. ROC-кривая уровня мРНК гена *ZFP36* в эутопическом эндометрии при диагностике НГЭ.

При анализе уровней мРНК кандидатных генов при помощи количественной ОТ-ПЦР на большей популяции женщин выявлено, что экспрессия генов *DUSP1* и *POSTN* в эутопическом эндометрии статистически значимо не различается у пациенток с НГЭ и пациенток без эндометриоза ( $p>0,05$ , U-тест Манна-Уитни).

Результаты анализа уровней мРНК кандидатных генов (*FOS*, *EGR-1*, *FOSB*, *DUSP1*, *ZFP36* и *POSTN*) при помощи количественной ОТ-ПЦР представлены в Таблице 25.

Уровень мРНК генов *FOS*, *EGR-1*, *FOSB*, *DUSP1*, *ZFP36* и *POSTN*  
в эутопическом эндометрии пациенток исследуемых групп

мРНК	Пациентки с НГЭ (n=71)			Пациентки без эндометриоза (n=46)			Р-уровень значимости
	СЗ	М	ИКР	СЗ	М	ИКР	
<i>FOS</i>	2,020	0,425	0,088-2,144	0,498	0,156	0,069-0,399	<b>0,013</b>
<i>EGR-1</i>	0,323	0,088	0,048-0,338	0,128	0,068	0,036-0,129	<b>0,019</b>
<i>FOSB</i>	0,346	0,0077	0,003-0,088	0,024	0,0043	0,0026- 0,0087	<b>0,035</b>
<i>DUSP1</i>	0,306	0,087	0,050-0,249	0,118	0,070	0,056-0,133	0,254
<i>ZFP36</i>	0,615	0,185	0,112-0,377	0,208	0,139	0,102-0,234	<b>0,039</b>
<i>POSTN</i>	0,214	0,156	0,082-0,250	0,285	0,233	0,105-0,374	0,066

\*данные представлены как среднее значение (СЗ), медиана (М) и интерквартильный размах (ИКР), U-тест Манна-Уитни.

### 3.7 Иммуногистохимическое исследование эутопического эндометрия и капсулы эндометриоидных кист яичников

Исследована экспрессия факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF- $\kappa$ B p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенин), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в эутопическом эндометрии и капсуле ЭКЯ иммуногистохимическим методом.

В зависимости от течения заболевания за период наблюдения 1,5 года после оперативного лечения пациентки с ЭКЯ разделены на две группы: I группа – пациентки без рецидива ЭКЯ (группа сравнения); II группа – пациентки с рецидивом ЭКЯ (основная группа).

Клинико-anamнестическая характеристика пациенток исследуемых групп (см. главу 3.2 «Отдаленные результаты хирургического лечения, частота и клинические факторы риска рецидивирования эндометриоидных кист яичников») статистически значимо не различалась ( $p > 0,05$ ). По данным многофакторного анализа клинико-anamнестической характеристики пациенток исследуемых групп не было выявлено конфаундинг-факторов.



### 3.7.1 Результаты иммуногистохимического исследования эутопического эндометрия

На основании гистологического исследования эутопического эндометрия были отобраны образцы эутопического эндометрия без признаков патологии гиперпластического и воспалительного характера. При гистологическом исследовании образцов эутопического эндометрия выявлено, что все они соответствуют средней и поздней фазам стадии пролиферации и средней фазе стадии секреции. Таким образом, исследована экспрессия факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF-k $\beta$  p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенин), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в эутопическом эндометрии от 41 пациентки без рецидива ЭКЯ (группа сравнения) и 14 пациенток с рецидивом ЭКЯ (основная группа) иммуногистохимическим методом.

Экспрессия ER- $\alpha$ , ki-67, bcl-2, COX-2 и  $\beta$ -катенина в эутопическом эндометрии статистически значимо не различается между исследуемыми группами пациенток ( $p > 0,05$ , U-тест Манна-Уитни).

Экспрессия PR- $\alpha$  в эпителиальном компоненте эутопического эндометрия секреторной стадии у пациенток с рецидивом ЭКЯ (среднее значение – 285 баллов, M=285, ИКР=280-290) статистически значимо выше по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ (среднее значение – 255,6 баллов, M=280, ИКР=270-280) ( $p = 0,043$ , U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 27).

Зависимость рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии PR- $\alpha$  в эутопическом эндометрии секреторной стадии исследована ROC-анализом (Рисунок 28). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (50,0% и 100,0% соответственно) отмечается при уровне экспрессии PR- $\alpha > 280$  баллов. Показатель AUC=0,833 (95%ДИ: 0,628-1,000,  $p = 0,0015$ ), что характеризует качество модели как «очень хорошее».

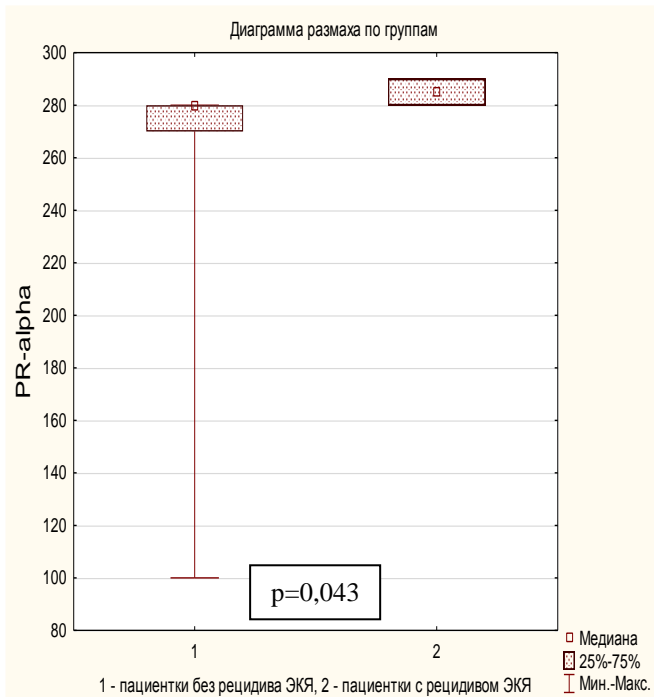


Рисунок 27. Уровень экспрессии PR- $\alpha$  в эпителиальном компоненте эутопического эндометрия секреторной стадии у пациенток исследуемых групп.

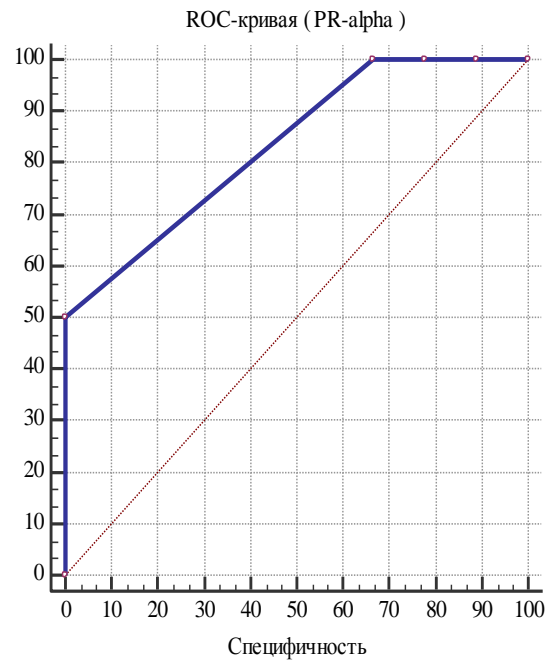


Рисунок 28. ROC-кривая зависимости рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии PR- $\alpha$  в эпителиальном компоненте эутопического эндометрия секреторной стадии.

По нашим данным, тест обладает очень высокой специфичностью (100,0%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного результата теста очень высокая.

Экспрессия NF- $\kappa$ B p65 в стромальном компоненте эутопического эндометрия пролиферативной стадии у пациенток с рецидивом ЭКЯ (среднее значение – 4,33 балла, M=4, ИКР=4-5) статистически значимо выше по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ (среднее значение – 3,66 баллов, M=4, ИКР=3-4) (p=0,048, U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 29).

Зависимость рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии NF- $\kappa$ B p65 в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии исследована ROC-анализом (Рисунок 30). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (44,44% и 84,37% соответственно) отмечается при уровне экспрессии NF- $\kappa$ B p65 >4 баллов.

Показатель  $AUC=0,705$  (95%ДИ: 0,526-0,884,  $p=0,025$ ), что характеризует качество модели как «хорошее».

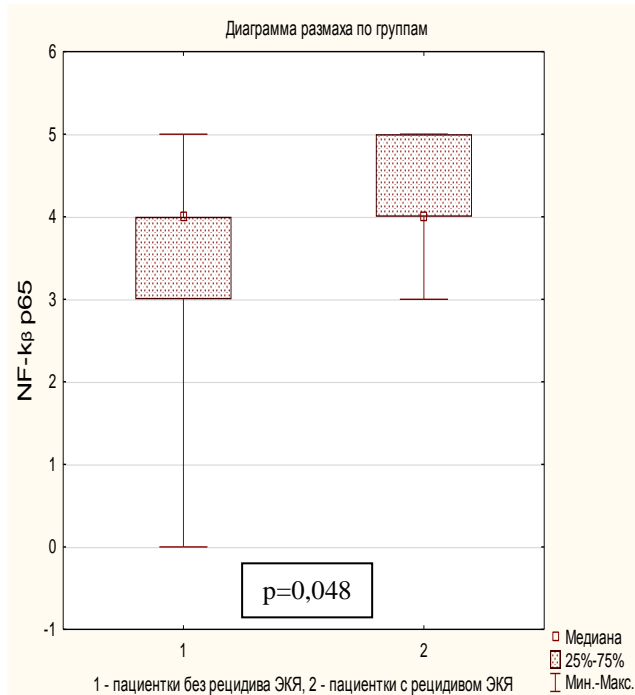


Рисунок 29. Уровень экспрессии NF- $\kappa$ B p65 в стромальном компоненте эутопического эндометрия пролиферативной стадии у пациенток исследуемых групп.

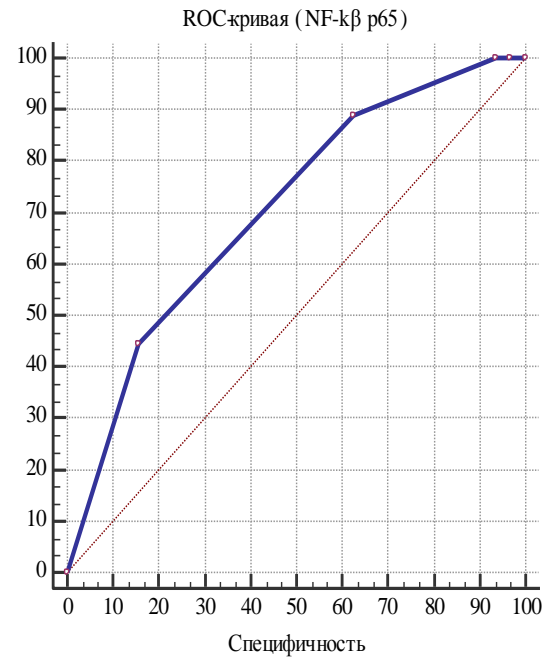


Рисунок 30. ROC-кривая зависимости рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии NF- $\kappa$ B p65 в стромальном компоненте эутопического эндометрия пролиферативной стадии.

По нашим данным, тест обладает очень высокой специфичностью (84,37%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного результата теста очень высокая.

В Таблице 26 и на Рисунке 31 приведен сравнительный анализ экспрессии исследуемых факторов в стромальном и эпителиальном компонентах эутопического эндометрия пациенток исследуемых групп.

Экспрессия факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF-k $\beta$  p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенин), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в эутопическом эндометрии пациенток исследуемых групп

Фактор / локализация	Пациентки без рецидива ЭКЯ (n=41)						Пациентки с рецидивом ЭКЯ (n=14)						Р-уровень значимости	
	Стадия пролиферации			Стадия секреции			Стадия пролиферации			Стадия секреции			p1	p2
	СЗ	М	ИКР	СЗ	М	ИКР	СЗ	М	ИКР	СЗ	М	ИКР		
ER- $\alpha$ строма	244,4	275	200-282,5	195	260	100-270	271	280	270-280	235	275	227,5-282,5	0,496	0,480
ER- $\alpha$ эпителий	269,7	285	280-290	254,4	280	280-290	284	280	280-290	285	285	280-290	0,961	0,544
PR- $\alpha$ строма	277,2	280	277,5-280	274,4	280	270-280	282	280	280-280	277,5	280	277,5-280	0,079	0,776
PR- $\alpha$ эпителий	266,6	280	280-290	255,6	280	270-280	283	280	280-287,5	285	285	280-290	0,597	<b>0,043</b>
Ki-67 строма	44,1%	60%	10-70%	26,7%	20%	10-40%	40,5%	40%	22,5-60%	47,5%	55%	32,5-70%	0,600	0,202
Ki-67 эпителий	64,2%	70%	57,5-90%	45,6%	60%	10-70%	70%	75%	60-80%	58,8%	75%	53,8-80%	0,964	0,311
Bcl-2 строма	0,53	0	0-1	0,11	0	0-0	0,60	0,50	0-1	0	0	0-0	0,816	0,617
Bcl-2 эпителий	1,91	2	1-3	0,56	0	0-1	2,00	2	1-3	1	1	0,75-1,25	0,864	0,268
NF-k $\beta$ p65 строма	3,66	4	3-4	3,56	4	3-4	4,33	4	4-5	3,25	3,50	2,75-4	<b>0,048</b>	0,680
NF-k $\beta$ p65 эпителий	4,91	5	5-5	5	5	5-5	5	5	5-5	5	5	5-5	0,364	0,999

эпителий														
СОХ-2 стромы	0,36	0	0-1	0,11	0	0-0	0,44	0	0-1	0,25	0	0-0,25	0,643	0,622
СОХ-2 эпителий	2,23	2	2-3	2,67	3	3-3	2,22	3	2-3	3	3	3-3	0,753	0,617
$\beta$ -катенин стромы	1,59	2	1-2	1,11	1	1-1	1,80	2	1-2	1,25	1	1-1,25	0,606	0,776
$\beta$ -катенин эпителий	2,97	3	3-3	3	3	3-3	3	3	3-3	2,75	3	2,75-3	0,614	0,182

\*данные представлены как среднее значение (СЗ), медиана (М) и интерквартильный размах (ИКР), p1 – уровень значимости для данных по пролиферативной стадии, p2 – уровень значимости для данных по секреторной стадии, U-тест Манна-Уитни.

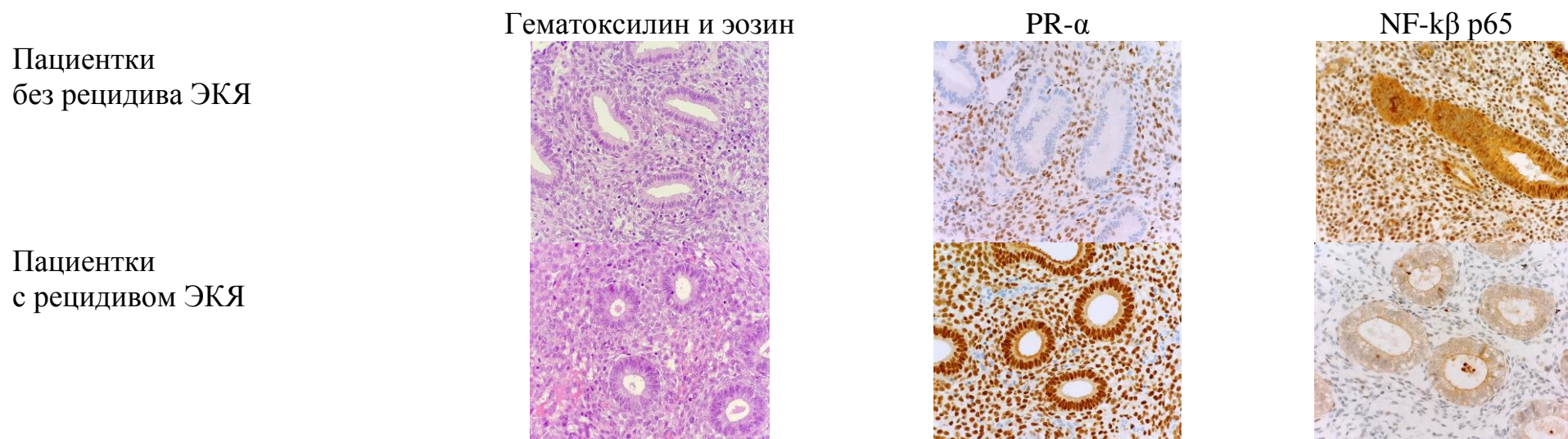


Рисунок 31. Иммуногистохимическая экспрессия PR- $\alpha$  и NF-k $\beta$  p65 в эутопическом эндометрии пациенток исследуемых групп (x400).

### **3.7.2 Результаты иммуногистохимического исследования капсулы эндометриоидных кист яичников**

При гистологическом исследовании капсула ЭКЯ представлена разнонаправленными фиброзными волокнами и с внутренней стороны выстлана эндометриальной стромой, которая покрыта поверхностным эпителием эндометриального типа.

Исследована экспрессия факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF-k $\beta$  p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенин), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в капсуле ЭКЯ от 29 пациенток без рецидива ЭКЯ (группа сравнения) и 19 пациенток с рецидивом ЭКЯ (основная группа) иммуногистохимическим методом.

Экспрессия ER- $\alpha$ , ki-67 и bcl-2 в капсуле ЭКЯ статистически значимо не различается между исследуемыми группами пациенток ( $p > 0,05$ , U-тест Манна-Уитни).

Среднее значение экспрессии PR- $\alpha$  в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ составило 271,2 балла (M=280, ИКР=270-280), среднее значение экспрессии PR- $\alpha$  в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ – 260,7 баллов (M=270, ИКР=250-280). Статистически значимых различий в показателях экспрессии PR- $\alpha$  в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ не выявлено ( $p = 0,130$ , U-тест Манна-Уитни).

Среднее значение экспрессии PR- $\alpha$  в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ составило 71,2 балла (M=10, ИКР=10-20). Среднее значение экспрессии PR- $\alpha$  в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ составило 188,5 баллов (M=220, ИКР=220-250). Экспрессия PR- $\alpha$  в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ статистически значимо выше по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ ( $p = 0,023$ , U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 32).

Зависимость рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии PR- $\alpha$  в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ исследована ROC-анализом (Рисунок

33). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (90,91% и 76,92% соответственно) отмечается при уровне экспрессии PR- $\alpha$  >20 баллов. Показатель AUC=0,769 (95%ДИ: 0,558-0,980,  $p=0,013$ ), что характеризует качество модели как «хорошее».

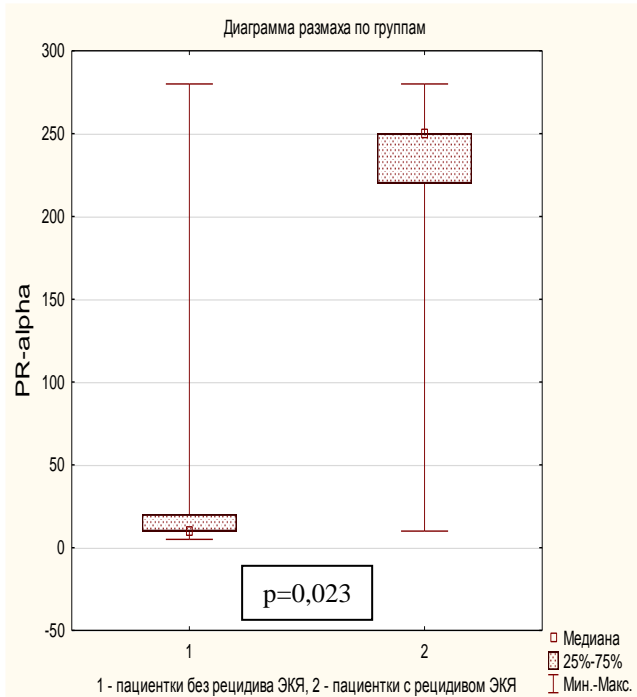


Рисунок 32. Уровень экспрессии PR- $\alpha$  в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток исследуемых групп.

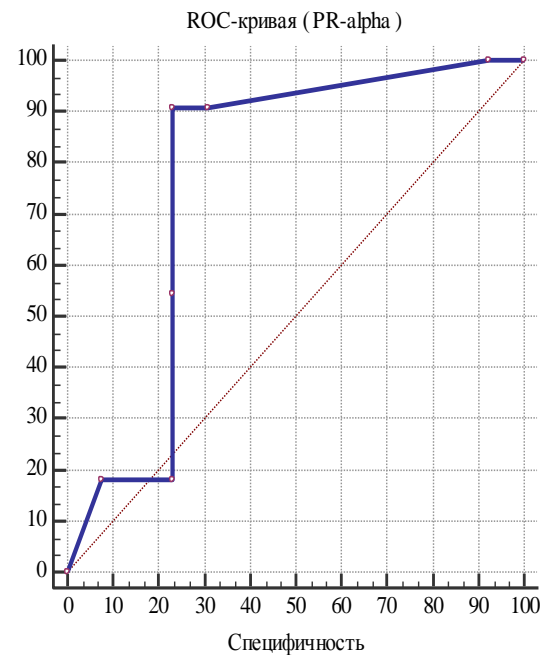


Рисунок 33. ROC-кривая зависимости рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии PR- $\alpha$  в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ.

По нашим данным, тест обладает высокой чувствительностью (90,91%) и специфичностью (76,92%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов теста высокая.

Среднее значение экспрессии NF- $\kappa$ B p65 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ составило 3,50 баллов (M=4, ИКР=3-4). Среднее значение экспрессии NF- $\kappa$ B p65 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ составило 2,54 балла (M=3, ИКР=2-3). Экспрессия NF- $\kappa$ B p65 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ статистически значимо ниже по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ ( $p=0,0051$ , U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 34).

Среднее значение экспрессии NF-к $\beta$  p65 в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ составило 4,79 баллов (M=5, ИКР=5-5), среднее значение экспрессии NF-к $\beta$  p65 в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ – 4,50 баллов (M=5, ИКР=4-5). Статистически значимых различий в показателях экспрессии NF-к $\beta$  p65 в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ не выявлено ( $p=0,301$ , U-тест Манна-Уитни).

Зависимость рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии NF-к $\beta$  p65 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ исследована ROC-анализом (Рисунок 35). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (84,62% и 59,09% соответственно) отмечается при уровне экспрессии NF-к $\beta$  p65  $\leq 3$  баллов. Показатель AUC=0,773 (95%ДИ: 0,617-0,929,  $p=0,0006$ ), что характеризует качество модели как «хорошее».

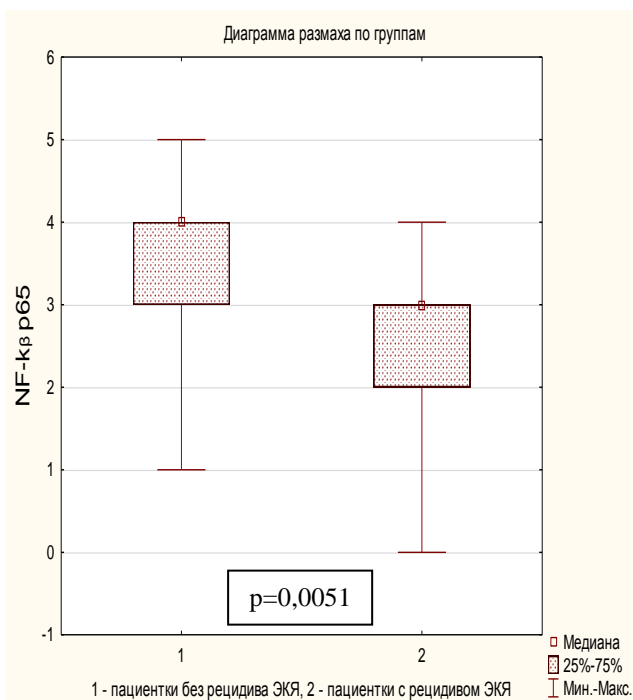


Рисунок 34. Уровень экспрессии NF-к $\beta$  p65 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток исследуемых групп.

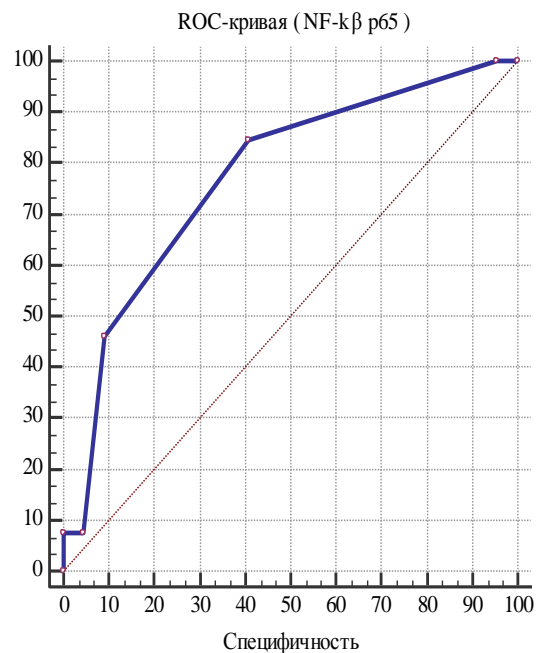


Рисунок 35. ROC-кривая зависимости рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии NF-к $\beta$  p65 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ.



По нашим данным, тест обладает очень высокой чувствительностью (84,62%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность отрицательного результата теста очень высокая.

Среднее значение экспрессии СОХ-2 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ составило 1,38 баллов (М=1, ИКР=1-2). Среднее значение экспрессии СОХ-2 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ составило 0,23 балла (М=0, ИКР=0-0). Экспрессия СОХ-2 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ статистически значимо ниже по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ ( $p=0,0012$ , U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 36).

Среднее значение экспрессии СОХ-2 в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ составило 3 балла (М=3, ИКР=3-3), среднее значение экспрессии СОХ-2 в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ – 2,82 балла (М=3, ИКР=2,5-3). Статистически значимых различий в показателях экспрессии СОХ-2 в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ не выявлено ( $p=0,417$ , U-тест Манна-Уитни).

Зависимость рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии СОХ-2 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ исследована ROC-анализом (Рисунок 37). По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (84,62% и 76,19% соответственно) отмечается при уровне экспрессии СОХ-2  $\leq 0$  баллов. Показатель AUC=0,815 (95%ДИ: 0,680-0,950,  $p<0,0001$ ), что характеризует качество модели как «очень хорошее».

По нашим данным, тест обладает высокой чувствительностью (84,62%) и высокой специфичностью (76,19%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов теста высокая.

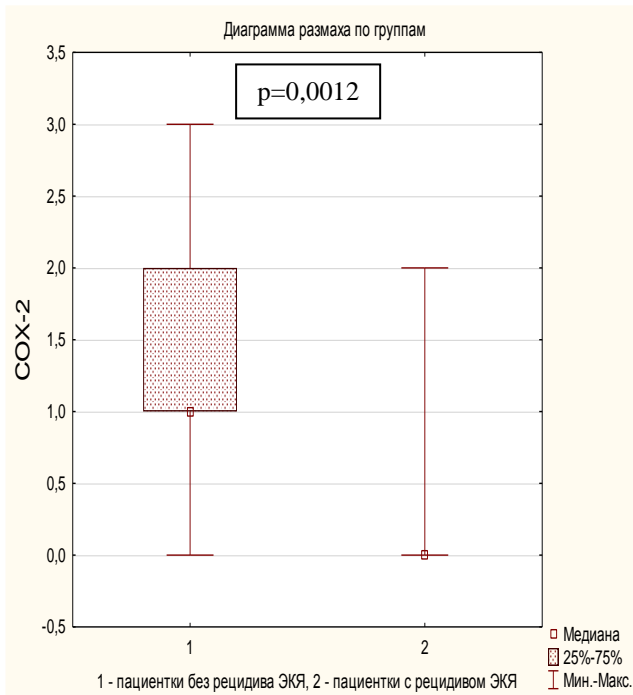


Рисунок 36. Уровень экспрессии СОХ-2 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток исследуемых групп.

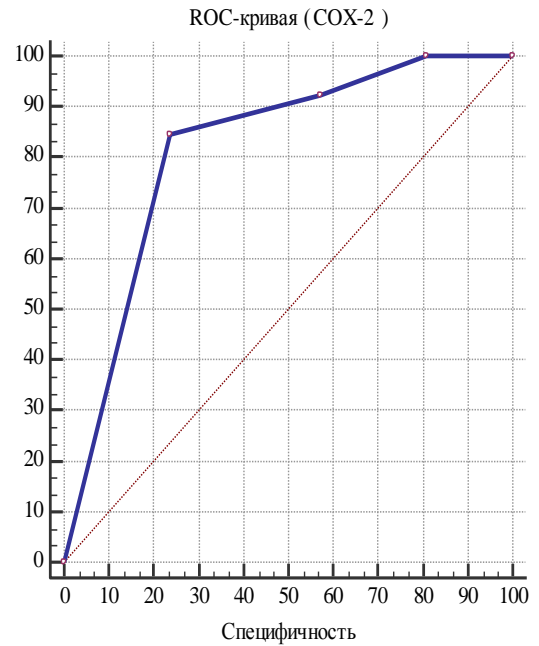


Рисунок 37. ROC-кривая зависимости рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии СОХ-2 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ.

Среднее значение экспрессии  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ составило 1,59 баллов ( $M=2$ , ИКР=1-2). Среднее значение экспрессии  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ составило 2,50 балла ( $M=3$ , ИКР=2-3). Экспрессия  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ статистически значимо выше по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ ( $p=0,013$ , U-тест Манна-Уитни) (Рисунок 38).

Среднее значение экспрессии  $\beta$ -катенина в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ составило 2,90 баллов ( $M=3$ , ИКР=3-3), среднее значение экспрессии  $\beta$ -катенина в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ – 2,92 балла ( $M=3$ , ИКР=3-3). Статистически значимых различий в показателях экспрессии  $\beta$ -катенина в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ не выявлено ( $p=0,885$ , U-тест Манна-Уитни).

Зависимость рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ исследована ROC-анализом (Рисунок 39).

По данным ROC-анализа, оптимальное соотношение чувствительности и специфичности диагностического теста (66,67% и 77,27% соответственно) отмечается при уровне экспрессии  $\beta$ -катенина  $>2$  баллов. Показатель AUC=0,752 (95%ДИ: 0,582-0,921,  $p=0,0036$ ), что характеризует качество модели как «хорошее».

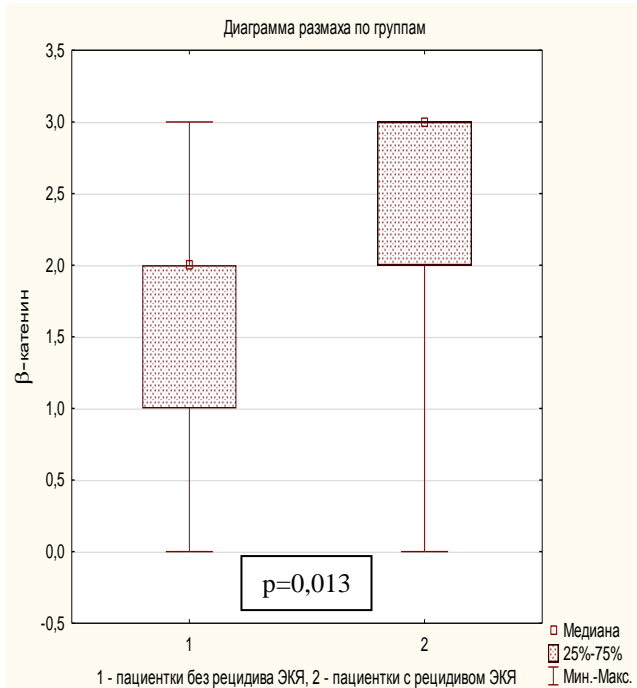


Рисунок 38. Уровень экспрессии  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ у пациенток исследуемых групп.

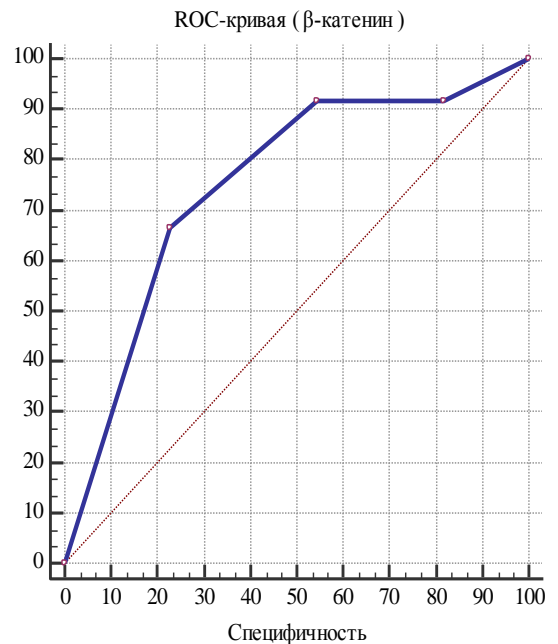


Рисунок 39. ROC-кривая зависимости рецидивирования ЭКЯ от уровня экспрессии  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ.

По нашим данным, тест обладает высокой специфичностью (77,27%), это свидетельствует о том, что прогностическая ценность положительного результата теста высокая.

В Таблице 27 и на Рисунке 40 приведен сравнительный анализ экспрессии факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF- $\kappa$ B p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенина), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в стромальном и эпителиальном компонентах капсулы ЭКЯ у пациенток исследуемых групп.

Экспрессия факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF-k $\beta$  p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенин), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в капсуле ЭКЯ у

пациенток исследуемых групп

Фактор / локализация	Пациентки без рецидива ЭКЯ (n=29)			Пациентки с рецидивом ЭКЯ (n=19)			P-уровень значимости
	СЗ	М	ИКР	СЗ	М	ИКР	
ER- $\alpha$ строма	256,8	270	260-270	266	270	270-270	0,414
ER- $\alpha$ эпителий	233,9	270	170-280	251,5	250	240-270	0,813
PR- $\alpha$ строма	271,2	280	270-280	260,7	270	250-280	0,130
PR- $\alpha$ эпителий	71,2	10	10-20	188,5	220	220-250	<b>0,023</b>
Ki-67 строма	11,8%	10%	10-15%	9,8%	10%	5-14,3%	0,465
Ki-67 эпителий	9,7%	5%	2-13,8%	2,9%	0%	5-12,5%	0,067
Bcl-2 строма	0,25	0	0-0,10	0,33	0	0-0,75	0,805
Bcl-2 эпителий	0,63	0	0-1	0,94	1	0,25-1,00	0,273
NF-k $\beta$ p65 строма	3,50	4	3-4	2,54	3	2-3	<b>0,0051</b>
NF-k $\beta$ p65 эпителий	4,79	5	5-5	4,50	5	4-5	0,301
COX-2 строма	1,38	1	1-2	0,23	0	0-0	<b>0,0012</b>
COX-2 эпителий	3	3	3-3	2,82	3	2,5-3	0,417
$\beta$ -катенин строма	1,59	2	1-2	2,50	3	2-3	<b>0,013</b>
$\beta$ -катенин эпителий	2,90	3	3-3	2,92	3	3-3	0,885

\*данные представлены как среднее значение (СЗ), медиана (М) и интерквартильный размах (ИКР), U-тест Манна-Уитни.

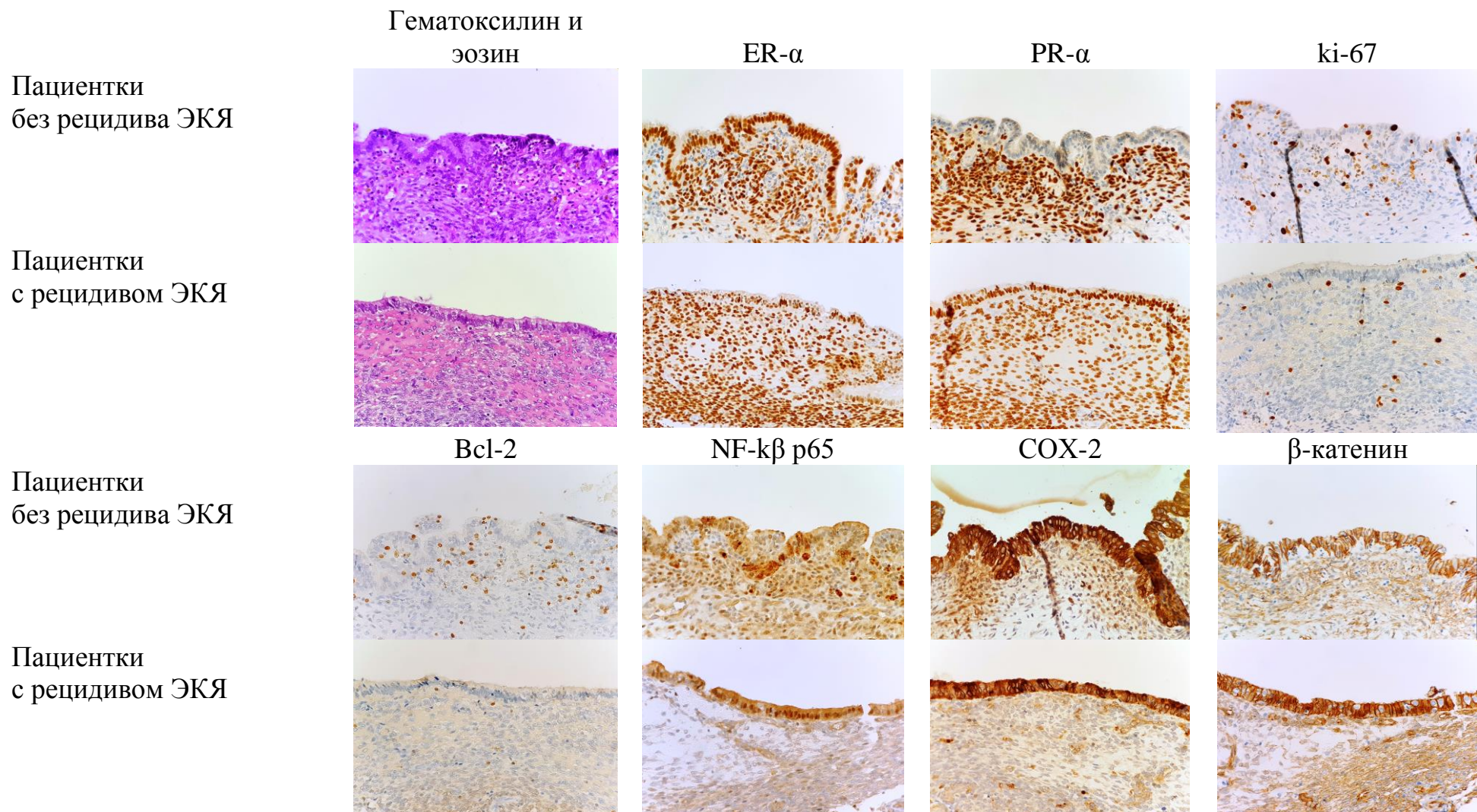


Рисунок 40. Иммуногистохимическая экспрессия факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF-k $\beta$  p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенин), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в капсуле ЭКЯ у пациенток исследуемых групп (x400).

### **3.7.3 Иммуногистохимические особенности эутопического эндометрия и капсулы эндометриоидных кист яичников**

Проведен сравнительный анализ экспрессии исследуемых факторов (ER- $\alpha$ , PR- $\alpha$ , ki-67, bcl-2, NF-k $\beta$  p65, COX-2 и  $\beta$ -катенин) в эутопическом эндометрии и капсуле ЭКЯ у пациенток исследуемых групп.

Обнаружено значительное понижение экспрессии ER- $\alpha$  в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием у пациенток с рецидивом ЭКЯ и пациенток без рецидива ЭКЯ (в эпителиальном компоненте) ( $p < 0,0001$ ,  $p = 0,00036$  соответственно, U-тест Манна-Уитни), значительное понижение экспрессии PR- $\alpha$  в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием у пациенток с рецидивом ЭКЯ (в стромальном и эпителиальном компонентах) и пациенток без рецидива ЭКЯ (в эпителиальном компоненте) ( $p = 0,020$ ,  $p = 0,00087$ ,  $p < 0,0001$  соответственно, U-тест Манна-Уитни), значительное понижение экспрессии ki-67 в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием у пациенток с рецидивом ЭКЯ и пациенток без рецидива ЭКЯ (в стромальном и эпителиальном компонентах) ( $p = 0,00098$ ,  $p < 0,0001$ ,  $p = 0,0012$ ,  $p < 0,0001$  соответственно, U-тест Манна-Уитни), значительное понижение экспрессии bcl-2 в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием у пациенток с рецидивом ЭКЯ (в эпителиальном компоненте) и пациенток без рецидива ЭКЯ (в стромальном компоненте) ( $p = 0,0017$ ,  $p = 0,023$  соответственно, U-тест Манна-Уитни), значительное понижение экспрессии NF-k $\beta$  p65 в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием у пациенток с рецидивом ЭКЯ (в стромальном компоненте) ( $p = 0,00086$ , U-тест Манна-Уитни), значительное повышение экспрессии COX-2 в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием у пациенток без рецидива ЭКЯ (в стромальном и эпителиальном компонентах) ( $p < 0,0001$ ,  $p = 0,0011$  соответственно, U-тест Манна-Уитни) и значительное повышение экспрессии  $\beta$ -катенина в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием у пациенток с рецидивом ЭКЯ (в стромальном компоненте) ( $p = 0,018$ , U-тест Манна-Уитни).

#### Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данном исследовании проанализированы отдаленные результаты хирургического лечения, частота и факторы риска рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года после оперативного лечения.

По нашим данным, в группе пациенток, не получавших ГТ, жалобы на хронические тазовые боли возобновились у 22,5% (9/40) пациенток, жалобы на диспареунию – у 60,0% (3/5) пациенток, жалобы на дисменорею – у 17,4% (4/23) пациенток, жалобы на меноррагию – у 9,5% (2/21) пациенток и жалобы на бесплодие остались у 74,2% (23/31) пациенток. Полученные результаты соответствуют данным другого исследования [262], согласно которому частота рецидивирования тазовой боли составляет 21,0%, а частота рецидивирования дисменореи – 24,0% за период наблюдения 2 года после оперативного лечения.

По нашим данным, частота рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года у пациенток, не получавших ГТ, составляет 19,7%, что соответствует данным других исследований [254, 255, 288], согласно которым частота рецидивирования ЭКЯ у пациенток, не получавших ГТ, составляет 21,5-30,4% за 2 года. Самый ранний рецидив ЭКЯ наблюдался через 7 месяцев после оперативного лечения, что также соответствует данным литературы [255].

В то же время, по данным M.Busacca и соавт. [90] и M.Vignali и соавт. [289], частота рецидивирования эндометриоза яичников составляет 17,4-24,6% за период наблюдения 4 года после операции, а частота рецидивирования глубокого инфильтративного эндометриоза – 9% и 28% за период наблюдения 3 и 5 лет после операции соответственно.

Результаты большинства исследований [146, 254, 255, 262, 288] согласуются с данными нашего исследования, некоторые несоответствия с данными литературы [90, 289] могут быть связаны с отсутствием строгого отбора пациенток по признаку отсутствия ГТ после оперативного лечения, различными критериями определения рецидива заболевания, а также исследованием рецидивирования различных фенотипических форм эндометриоза.

По данным большинства исследований [55, 146, 236, 255, 257, 269], уровень рецидивирования ЭКЯ увеличивается приблизительно на 10% в год, составляя более 50% за период наблюдения 5 лет после оперативного лечения. Такое увеличение может быть объяснено взаимосвязью количества овуляторных циклов с развитием ЭКЯ. Х.Ли и соавт. сообщили [236], что увеличение частоты рецидивирования, как правило, стабильно в течение 28-30 месяцев после оперативного лечения и снижается по истечении этого периода. В другом исследовании [255] показано последовательное увеличение частоты рецидивирования заболевания в течение 5 лет после оперативного вмешательства, однако по истечении 5-летнего периода частота рецидивирования заболевания резко снизилась и составила 0%. Исследований, сообщающих о наблюдении за пациентками за период более чем 5 лет после оперативного лечения, очень мало, поэтому требуются дополнительные исследования для выявления долгосрочной частоты рецидивирования эндометриоза.

По нашим данным, в группе пациенток, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев, жалобы на хронические тазовые боли возобновились у 19,2% (5/26) пациенток, жалобы на диспареунию – у 0% (0/9) пациенток, жалобы на дисменорею – у 0% (0/18) пациенток, жалобы на меноррагию – у 0% (0/39) пациенток и жалобы на бесплодие остались 38,1% (8/21) пациенток. Полученные результаты соответствуют данным других исследований [31, 156, 208, 296], согласно которым аГнРГ являлись наиболее эффективными в лечении эндометриоз-ассоциированных болевых симптомов, а снижение тазовой боли находилось в диапазоне от 50% до 90%. Проведенные РКИ [144] показали, что аГнРГ превосходят плацебо и так же эффективны, как и другие медикаментозные методы лечения боли и снижения прогрессирования эндометриоидных имплантов.

По нашим данным, частота рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года у пациенток, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев, составляет 17,9%, а самый ранний рецидив заболевания наблюдался через 9 месяцев после оперативного лечения. По данным других



исследований [237, 254, 255, 263] у пациенток, получавших аГнРГ в течение 6 месяцев после оперативного лечения, заболевание не рецидивировало в течение 6 месяцев терапии, однако окончательная частота рецидивирования за период наблюдения 3 и 5 лет статистически значимо не отличалась от частоты рецидивирования у пациенток, не получавших ГТ. По данным исследования S.Alborzi и соавт. [31], частота рецидивирования эндометриоза за период наблюдения 1 год статистически значимо не различалась между группой пациенток, получавших аГнРГ в течение 2 месяцев, и группой пациенток, не получавших ГТ. Таким образом, можно сделать вывод, что аГнРГ могут только задержать рецидивирование ЭКЯ, но не могут его предотвратить.

По нашим данным, в группе пациенток, получавших диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме в течение 12 месяцев, жалобы на хронические тазовые боли имели 61,1% (11/18) пациенток до операции против 11,1% (2/18) пациенток после операции ( $p=0,0018$ ,  $\chi^2$ -тест), дисменореею – 44,4% (8/18) пациенток до операции против 5,6% (1/18) пациенток после операции ( $p=0,0071$ ,  $\chi^2$ -тест) и меноррагию – 38,9% (7/18) пациенток до операции против 5,6% (1/18) пациенток после операции ( $p=0,016$ ,  $\chi^2$ -тест). Таким образом, жалобы на хронические тазовые боли возобновились у 18,2% (2/11) пациенток, жалобы на дисменореею – у 12,5% (1/8) пациенток и жалобы на меноррагию – у 14,2% (1/7) пациенток. Полученные результаты соответствуют данным двойного слепого мультицентрового РКИ [95], согласно которому терапия диеногестом в течение 24 недель являлась эффективной в лечении хронической тазовой боли, диспареунии, болей при дефекации и гинекологическом обследовании и снизила эти жалобы до уровня здоровых женщин. В этом исследовании [95] также сравнивался профиль безопасности приема диеногеста и аГнРГ и продемонстрирована лучшая переносимость диеногеста по сравнению с аГнРГ.

По нашим данным, не наблюдалось рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года у пациенток, получавших диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме в течение 12 месяцев после оперативного лечения. Полученные данные согласуются с данными другого исследования [255],

согласно которому заболевание не рецидивировало среди пациенток, получающих диеногест или КОК в непрерывном режиме. В случае досрочного прекращения приема частота рецидивирования ЭКЯ составляла 55,5% за период наблюдения 5 лет [255]. Согласно этому исследованию [255], длительная терапия (более 2 лет) значительно снижала частоту рецидивирования ЭКЯ, однако частота рецидивирования ЭКЯ статистически значимо не различалась между пациентками, получавшими диеногест или КОК не более 6 месяцев, и пациентками, не получающими ГТ.

Диеногест ингибирует овуляцию, воздействуя на секрецию гонадотропина, и снижает уровень эстрадиола, что приводит к ингибированию развития эндометриозных очагов [55]. Проведенные исследования [92, 93, 95, 96] показали эффективность диеногеста в лечении эндометриоза на протяжении 16 месяцев после оперативного лечения. Также сообщалось, что диеногест является эффективным в лечении эндометриоз-ассоциированного болевого синдрома у женщин, не подвергавшихся оперативному лечению [95]. В то же время необходимы дополнительные исследования для оценки эффективности долгосрочного лечения диеногестом, а также для определения частоты рецидивирования после прекращения адъювантной терапии. Учитывая механизм действия диеногеста можно предположить, что частота рецидивирования эндометриоза увеличится после прекращения приема этого препарата.

Таким образом, можно сделать вывод, что ГТ для профилактики рецидивирования ЭКЯ должна быть назначена в непрерывном режиме и продолжена до планирования беременности или появления побочных эффектов.

По нашим данным, рецидив ЭКЯ через 1,5 года после оперативного лечения сопровождается жалобами только у 52,6% пациенток ( $p < 0,0001$ ,  $\chi^2$ -тест), а основной жалобой является хроническая тазовая боль (у 31,6% пациенток,  $p = 0,014$ ). Подобные результаты связаны с выявлением рецидива ЭКЯ на самых ранних стадиях его возникновения.

По данным ROC-анализа, суммарный диаметр ЭКЯ  $> 4,5$  см (AUC=0,762, 95%ДИ: 0,660-0,863,  $p < 0,0001$ ), III-IV стадия распространения эндометриоза по

классификации ASRM 1996 г. (AUC=0,714, 95%ДИ: 0,591-0,838,  $p=0,0007$ ) и наличие оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе (AUC=0,681, 95%ДИ: 0,561-0,802,  $p=0,0032$ ) являются значимыми факторами риска рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года после оперативного лечения. Полученные данные согласуются с данными других исследований [254, 257, 288], согласно которым большой размер ЭКЯ и оперативные вмешательства по поводу эндометриоза в анамнезе являются факторами риска рецидивирования ЭКЯ.

Пациентки с рецидивом ЭКЯ по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ статистически значимо чаще получали ГТ по поводу эндометриоза до оперативного лечения ( $p=0,041$ ,  $\chi^2$ -тест), однако по данным ROC-анализа прием ГТ до оперативного лечения не являлся фактором риска рецидивирования ЭКЯ (AUC=0,604, 95%ДИ: 0,486-0,722,  $p=0,085$ ). Подобные результаты могут быть связаны как с «маскировкой» эндометриоидных очагов под действием гормональных препаратов и, следовательно, не полным их удалением при оперативном вмешательстве, так и с наличием большего количества оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе с последующей ГТ в группе пациенток с рецидивом ЭКЯ.

По нашим данным, ИМТ, возраст менархе, продолжительность менструального цикла, длительность менструации, возраст во время оперативного вмешательства, наличие двухсторонних ЭКЯ, глубокого инфильтративного эндометриоза, эндометриоидных очагов на брюшине малого таза, аденомиоза и/или спаечного процесса, наличие болевого синдрома, дисменореи и/или отягощенной наследственности по эндометриозу среди ближайших родственниц по материнской линии не связаны с частотой рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года после оперативного лечения ( $p>0,05$ ,  $\chi^2$ -тест). По данным других исследований [89, 237, 246, 288], более молодой возраст во время оперативного лечения, наличие хронической тазовой боли и дисменореи до оперативного лечения являются значимыми факторами риска рецидивирования ЭКЯ. Авторы этих исследований [246, 255, 288] предполагают, что заболевание у

молодых пациенток имеет более агрессивное течение и именно с этим связана более высокая частота рецидивирования в послеоперационном периоде. Подобные несоответствия с данными литературы по возрасту могут быть объяснены меньшим периодом наблюдения после оперативного лечения в нашем исследовании.

Существует два возможных пути рецидивирования различных фенотипических форм эндометриоза: возобновление роста оставшихся эндометриоидных гетеротопий и формирование эндометриоидных гетеротопий *de novo* при ретроградной менструации [247]. M. Vignali и соавт. [289] обнаружили, что рецидив глубокого инфильтративного эндометриоза, наблюдаемый во время повторного оперативного вмешательства, как правило, находится в той же области малого таза, которая была поражена при первом оперативном вмешательстве. Рецидив ЭКЯ в 88,7% случаев возникает именно в том яичнике, который подвергался оперативному лечению ранее [146, 247]. Возможно, возобновление роста происходит из сателлитных очагов в области с многочисленными эндометриоидными локусами, которые независимы от первоначального очага. Консервативного хирургического лечения в таких случаях бывает недостаточно для полного удаления эндометриоидной ткани, что становится причиной рецидивирования заболевания [155]. В то же время, по данным исследования С. Bulletti и соавт. [113], лапароскопическое оперативное лечение с аблацией эндометрия эффективно предотвращает рецидивирование эндометриоза. Это подтверждает возможность рецидивирования эндометриоза в результате ретроградного заноса эутопического эндометрия в полость малого таза [115].

По сравнению с рецидивированием эндометриоидных очагов и ЭКЯ, патогенез рецидивирования эндометриоз-ассоциированных симптомов кажется еще более сложным процессом. Продемонстрирована корреляция между эндометриоидными очагами и болевым синдромом, например, диспареуния связана с глубокими инфильтративными очагами крестцово-маточных и кардинальных связок, Дугласова пространства, заднего свода влагалища и/или

передней стенки прямой кишки [118]. Однако рецидив тазовой боли не обязательно означает, что эндометриоидные очаги появились на том же месте [247].

Для выявления ассоциации генотипа и риска развития различных форм НГЭ исследованы некоторые полиморфные локусы (rs4703908:G>C, rs10859871:A>C, rs10965235:C>A) генов *ZNF366*, *VEZT* и *CDKN2B-AS*.

Полученные данные по частотам встречаемости генотипов и аллелей у пациенток без эндометриоза соответствуют данным по Европе ( $p>0,05$ ,  $\chi^2$ -тест). Некоторые незначительные различия можно связать со спецификой выборки группы сравнения (наличие данных в европейской популяции, в том числе, по мужчинам, а также отсутствие строгого отбора по признаку отсутствия эндометриоза). Показателем достоверности полученных результатов может служить то, что распределение частот генотипов для всех полиморфизмов в группе сравнения соответствовало ожидаемым частотам генотипов равновесного распределения по закону Харди-Вайнберга ( $p>0,05$ ,  $\chi^2$ -тест).

По нашим данным, гетерозиготный генотип CG локуса rs4703908 ассоциирован с риском развития ЭКЯ (ОШ=1,706; 95%ДИ: 0,863-3,371;  $p=0,123$ ), глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=1,977; 95%ДИ: 0,992-3,942;  $p=0,051$ ) и эндометриоза брюшины малого таза (ОШ=1,565; 95%ДИ: 0,661-3,707;  $p=0,307$ ). Для всех форм НГЭ значение ОШ $>1,5$ , однако  $p>0,05$ , это свидетельствует о том, что ассоциация не достаточно сильная, чтобы рассматривать потенциальное клиническое применение.

По нашим данным, гетерозиготный генотип CG локуса rs4703908 наиболее сильно ассоциирован с риском развития глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=1,977; 95%ДИ: 0,992-3,942;  $p=0,051$ ) по сравнению с другими формами НГЭ. Результаты нашего исследования согласуются с данными зарубежных авторов [169], согласно которым генотип CG локуса rs4703908 обеспечивает более высокий риск развития ЭКЯ (ОШ=2,22; 95%ДИ: 1,26-3,92) и глубокого инфильтративного эндометриоза, особенно с вовлечением кишечника (ОШ=2,09; 95%ДИ: 1,12-3,91).

Rs4703908 связан с заменой G на C и расположен на хромосоме 5 в интронной области рядом с геном *ZNF366*, который играет важную роль в регуляции экспрессии генов-мишеней эстрогена [325]. *ZNF366* может быть независимым прогностическим фактором рака груди [71, 80, 169]. *ZNF366* также является опухолевым супрессором при развитии рака молочной железы [80, 86, 169]. На основании полученных данных, можно предположить, что глубокий инфильтративный эндометриоз является более эстроген-зависимой формой заболевания по сравнению с ЭКЯ и эндометриозом брюшины малого таза, в развитии которых, вероятно, более значительную роль играют другие патогенетические факторы.

По нашим данным, гомозиготный генотип CC локуса rs10859871 ассоциирован с риском развития всех форм НГЭ (ЭКЯ, глубокий инфильтративный эндометриоз и эндометриоз брюшины малого таза). Выявлена положительная ассоциация гомозиготного генотипа CC локуса rs10859871 и риска развития ЭКЯ (ОШ=5,516; 95%ДИ: 1,774-17,147;  $p=0,0013$ ), глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=6,218; 95%ДИ: 1,993-19,397;  $p=0,00054$ ) и эндометриоза брюшины малого таза (ОШ=4,750; 95%ДИ: 1,291-17,476;  $p=0,012$ ) по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения. Для всех форм НГЭ значение ОШ>1,5, а полученные данные являются статистически значимыми ( $p<0,05$ ), это значит, что ассоциация достаточно сильная и можно предполагать причинно-следственную связь и потенциальное клиническое применение.

Таким образом, выявлена положительная ассоциация гомозиготного генотипа CC локуса rs10859871 и риска развития НГЭ (ОШ=5,634; 95%ДИ: 1,949-16,288;  $p=0,00043$ ) по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения. Выявлена отрицательная ассоциация гомозиготного генотипа AA локуса rs10859871 и риска развития НГЭ (ОШ=0,536; 95%ДИ: 0,315-0,910;  $p=0,020$ ) по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения.

В группах пациенток с различными формами НГЭ значительно чаще встречается гомозиготный генотип CC локуса rs10859871 и значительно реже

встречается гомозиготный генотип AA локуса rs10859871 по сравнению с пациентками без эндометриоза из группы сравнения. Полученные результаты свидетельствуют об аутосомно-рецессивной модели наследования.

По результатам нескольких GWAS-исследований [134, 261], проведенных на японской и европейской популяциях, идентифицировано девять локусов, ассоциированных с развитием эндометриоза, из которых шесть (rs7521902, rs1270667, rs13394619, rs7739264, rs1537377 и rs10859871), в том числе rs10859871, определяются при эндометриозе наиболее часто. Результаты нашего исследования соответствуют данным зарубежных исследований [133, 134, 179, 261], в которых найдена статистически значимая взаимосвязь развития эндометриоза с локусом rs10859871 как при сравнении с общей популяцией [ОШ=1,43; 95%ДИ: 1,20-1,71;  $p=6,9 \times 10^{-5}$ ], так и при сравнении с лапароскопически подтвержденной контрольной группой [ОШ=1,58; 95%ДИ: 1,24-2,02;  $p = 2,1 \times 10^{-4}$ ].

Rs10859871 расположен в регионе 12q22 на 17 kb выше по отношению к гену *vezatin* (*VEZT*) [112, 133]. Ген *VEZT* кодирует трансмембранный белок VEZT, который идентифицирован как компонент E-кадгерин-катенинового комплекса адгезионных соединений [261]. Трансмембранный белок VEZT имеет короткий внеклеточный домен и длинный внутриклеточный домен, которые прикрепляются к миозину VIIA как часть адгезивного комплекса в эпителиальных клетках [60, 112, 318]. Этот белок, как было показано, играет важную роль в генерации адгезионных сил, необходимых для изменения формы и движения клеток во время эмбриогенеза [78, 261]. Предположительно, отсутствие белка VEZT приводит к нестабильному взаимодействию между E-кадгерин-катениновым комплексом и актиновым цитоскелетом в адгезионном соединении [78]. Кроме того, VEZT может входить в ядро клетки и регулировать экспрессию таргетных генов, которые модулируют клеточную адгезию и инвазию [78]. Позже было установлено, что ген *VEZT* действует как ген-супрессор опухолевого роста, воздействуя на клеточную миграцию и инвазию [319]. Экспрессия определенных

молекул адгезии, таких как интегрины и кадгерины, наблюдается в эутопическом и эктопическом эндометрии пациенток с эндометриозом [261].

Миграция, адгезия и инвазия являются фундаментальными патологическими процессами, лежащими в основе развития эндометриоза. Эндометриальные клетки, которые при ретроградной менструации попадают в брюшную полость, для выживания в условиях гипоксии должны непрерывно экспрессировать молекулы, вовлеченные в процессы миграции, адгезии и инвазии, приводя к развитию эндометриоидных очагов. Согласно данным проведенных исследований [222, 239, 320, 321] фокальная адгезия, регуляция актинового цитоскелета, рибосомальный путь, MAPK- и TGFB/SMAD-сигнальные пути являются важными молекулярными механизмами, лежащими в основе патогенеза эндометриоза. Продемонстрировано, что динамика актинового цитоскелета, затрагивающая клеточную миграцию, различно регулируется стероидными гормонами у пациенток с эндометриозом и без этого заболевания [111].

Известно, что у пациенток с эндометриозом экспрессия VEZT повышена в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим эндометрием [99, 112]. В исследовании S.J.Holdsworth-Carson и соавт. [112] наблюдалось увеличение экспрессии VEZT в эпителиальных железах эутопического эндометрия пролиферативной стадии у индивидуумов с аллелем риска (C). Повышение экспрессии VEZT способствует увеличению напряженности между плазматической мембраной и актиновым цитоскелетом (межклеточная адгезия), повышая способность пораженного эпителия устанавливать и поддерживать связь с базальной мембраной [112]. Этим можно объяснить тот факт, что ген, отвечающий за адгезионные межклеточные соединения и актиновую динамику, связан с эндометриозом.

Таким образом, гомозиготный генотип CC локуса rs10859871 является генетическим маркером НГЭ, что позволяет включить данный локус в программу скринингового обследования молодых женщин для выявления вероятности развития НГЭ. Своевременная реализация репродуктивной функции у женщин с



генотипом *CC* окажет протективное действие по отношению к развитию НГЭ и ассоциированного с ним бесплодия в будущем.

По нашим данным, ассоциаций между генотипами локуса *rs10965235* и риском развития НГЭ не выявлено ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест). *Rs10965235* локализован в гене *CDKN2B-AS* и, по данным литературы, является фактором риска развития эндометриоза в популяции корейских женщин [48]. В белой популяции этот ген является моноаллельным, что подтверждают наши данные.

По нашим данным, патологические изменения в эутопическом эндометрии выявлены у 45,7% пациенток с НГЭ и у 23,8% пациенток без эндометриоза ( $p = 0,00074$ ,  $\chi^2$ -тест). Хронический эндометрит выявлен у 20,7% пациенток с НГЭ и у 10,0% пациенток без эндометриоза, полученные различия являются статистически значимыми ( $p = 0,034$ ,  $\chi^2$ -тест). Полученные результаты соответствуют данным других недавно проведенных исследований [154, 294], согласно которым частота встречаемости хронического эндометрита значительно выше среди пациенток с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания (52,94% в группе пациенток с эндометриозом против 27,02% в группе женщин без эндометриоза,  $p < 0,05$ ), а согласно пошаговому логистическому регрессионному анализу только эндометриоз является значительным предиктором хронического эндометрита. Однако абсолютный уровень встречаемости хронического эндометрита в исследуемых группах (как в группе пациенток с эндометриозом, так и в группе женщин без этого заболевания) значительно выше по сравнению с нашими данными: 52,94% против 20,7% для пациенток с эндометриозом и 27,02% против 10,0% для женщин без эндометриоза [294]. По данным К.Kitaya и Т.Yasuo [194], проанализировавших 234 образца эутопического эндометрия полученных после гистерэктомии по поводу доброкачественной гинекологической патологии, хронический эндометрит определен в 11,1% образцов эутопического эндометрия. Эти данные соответствует результатам нашего исследования по абсолютному уровню встречаемости хронического эндометрита среди пациенток без эндометриоза. Таким образом, расхождение с данными литературы по абсолютному уровню

встречаемости хронического эндометрита можно объяснить более жесткими критериями постановки диагноза, которые использовались в нашем исследовании.

Следует отметить, что четких критериев количества плазматических клеток в эутопическом эндометрии для постановки диагноза «хронический эндометрит» не существует. Некоторые авторы [303] считают, что достаточно всего одной плазматической клетки для верификации данной патологии. В нашем исследовании использовались классические критерии для диагностики хронического эндометрита, которые могут быть отнесены к более жестким. Так, наличие одной плазматической клетки являлось достаточным для постановки диагноза «хронический эндометрит» только при верификации других морфологических признаков (изменения стромы). В тех случаях, когда отдельные из этих признаков были не выражены, для постановки диагноза «хронический эндометрит» необходимо было выявить не менее 5 плазматических клеток в 10 полях зрения. Данные критерии являются более оправданными как с гистологической, так и с клинической точки зрения, поскольку отражают совокупность патологических изменений в эутопическом эндометрии, возникающих в результате воспалительного процесса.

Несмотря на различия в абсолютных цифрах, полученные нами данные, как и данные других исследований [154, 137, 294], свидетельствуют о большей частоте встречаемости хронического эндометрита у пациенток с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания. Кроме того, воспалительный процесс в эутопическом эндометрии пациенток с эндометриозом протекает в более тяжелой форме по сравнению с женщинами без эндометриоза [294].

Полипы эндометрия выявлены у 20,7% пациенток с НГЭ и у 8,8% пациенток без эндометриоза ( $p=0,017$ ,  $\chi^2$ -тест). Полученные результаты соответствуют данным других исследований [184, 270], согласно которым частота встречаемости полипов эндометрия у пациенток с эндометриозом значительно выше по сравнению с женщинами без этого заболевания и составляет 19,9%.

Точный патогенез развития эндометриоза и полипов эндометрия не известен, однако, оба этих заболевания являются эстроген-зависимыми [270, 302].

Полип эндометрия – это локальный гиперпластический рост эндометриальных желез и стромы, в то время как эндометриоз – это эктопический рост эндометриальных желез и стромы. Оба заболевания включают разрастание эндометрия, а этот процесс требует, так называемой, «эстрогеновой поддержки» [119, 270]. Экспрессия ароматазы и ERs изменена как у пациенток с эндометриозом, так и у пациенток с полипами эндометрия. Ароматаза катализирует преобразование андрогенов в эстрогены, увеличивая локальную концентрацию эстрогенов. Эстрогеновый метаболизм, включающий ароматазу и 17 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназу 2 типа (17 $\beta$ -HSD2), фермент, который инактивирует эстрадиол в эстрон, изменен в эктопическом эндометрии пациенток с эндометриозом по сравнению с эктопическим эндометрием женщин без этого заболевания [119]. Кроме того, увеличение пролиферации и снижение апоптоза наблюдается в эктопическом эндометрии пациенток с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания [41, 120]. Экспрессия регулятора апоптоза bcl-2 значительно повышена в эктопическом эндометрии пациенток с эндометриозом, что приводит к ингибированию апоптоза [39]. Таким образом, эктопический эндометрий пациенток с эндометриозом, как было показано, отличается от эктопического эндометрия женщин без эндометриоза. Увеличение пролиферации, снижение апоптоза и измененный метаболизм в эктопическом эндометрии пациенток с эндометриозом способствуют появлению полипов эндометрия. Можно предположить, что аденомиоз и/или эндометриоидные очаги индуцируют секрецию цитокинов и других медиаторов, которые попадают в маточную жидкость, что способствует развитию патологических изменений в эктопическом эндометрии [274, 302]. Присутствие этих медиаторов может не только стимулировать рост полипов эндометрия далеко от области пораженной аденомиозом и/или эндометриоидными очагами, но и вызывать дисрегуляцию экспрессии различных генов в эктопическом эндометрии в течение менструального цикла, что может способствовать развитию бесплодия [274, 302]. В исследовании L.Shen и соавт. [152] показана значительно более высокая

встречаемость полипов эндометрия у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием.

Мы проанализировали частоту встречаемости хронического эндометрита, полипов эндометрия и гиперплазии эндометрия в зависимости от стадии распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г. Согласно полученным данным, частота встречаемости хронического эндометрита не связана со стадией заболевания ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест). Полученные результаты соответствуют данным другого исследования [294], согласно которому частота встречаемости хронического эндометрита у пациенток с эндометриозом не зависит от стадии заболевания. Частота встречаемости полипов эндометрия выше у пациенток с II-IV стадией заболевания по сравнению с пациентками с I стадией заболевания, однако полученные различия не являются статистически значимыми ( $p > 0,05$ ,  $\chi^2$ -тест). Эти результаты соответствуют данным других исследований [152, 270], согласно которым частота встречаемости полипов эндометрия выше при II-IV стадиях заболевания по сравнению с I стадией заболевания, однако полученные различия также не являются статистически значимыми.

Хронический эндометрит может быть независимым осложнением эндометриоза или может быть вовлечен в патогенез эндометриоза, так как выявляется даже на I стадии этого заболевания [294]. Полость матки связана с полостью малого таза посредством маточных труб, а клеточные и гуморальные факторы могут свободно перемещаться между этими полостями. Некоторые гуморальные факторы и/или субстанции, продуцируемые клетками эндометриоидных очагов в полости малого таза, могут возвращаться в полость матки и вызывать инфильтрацию плазматическими клетками стромального компонента эутопического эндометрия. С другой стороны, плазматические клетки эутопического эндометрия, которые характерны только для хронического эндометрита, могут проникать в полость малого таза при ретроградной менструации, что может вызывать и поддерживать развитие эндометриоидных очагов.

В последние годы основные усилия исследователей по всему миру направлены на поиски отличий в транскрипционной активности эутопического эндометрия пациенток с эндометриозом [168, 221]. Сопоставление профилей экспрессии эутопического эндометрия женщин с эндометриозом и женщин без этого заболевания позволило выявить целый ряд генов, уровень мРНК которых значительно отличается как в большую, так и в меньшую сторону. Однако в силу различий при составлении анализируемых групп пациенток, равно как и использованных для анализа микрочипов, списки этих генов различаются в исследованиях разных групп авторов.

Мы провели исследование транскрипционного профиля эутопического эндометрия пациенток с НГЭ при помощи микроматриц (mRNA microarray analysis). При сравнении транскриптомов эутопического эндометрия пролиферативной стадии пациенток с НГЭ и пациенток без эндометриоза из 14318 транскриптов выявлено повышение экспрессии 27 генов и понижение экспрессии 17 генов. При анализе данных с экспрессионных чипов Human Exon ST Array 2.0 выявлено наиболее значительное изменение экспрессии генов *FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog (FOS)*, *early growth response 1 (EGR-1)*, *FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B (FOSB)*, *dual specificity phosphatase 1 (DUSP1)*, *zinc finger protein 36 (ZFP36)*, *jun B proto-oncogene (JUNB)*, *jun proto-oncogene (JUN)*, *forkhead box D4-like 3 (FOXD4L3)*, *periostin, osteoblast specific factor (POSTN)* и *JPX transcript, XIST activator (non-protein coding) (JPX)*. Данные гены встречаются в исследованиях [109, 168, 221] по изучению транскрипционного профиля эутопического эндометрия пациенток с эндометриозом при помощи других методик полногеномных исследований, таким образом, полученные результаты во многом соответствуют опубликованным данным, что делает данные гены перспективными биомаркерами НГЭ.

По данным исследования J.S.Tamargis и соавт. [221], в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с эндометриозом по сравнению с эутопическим эндометрием пролиферативной стадии пациенток без этого заболевания наиболее сильно повышена экспрессия генов *FOSB* (в 34,1 раз), *FOS*

(в 28,5 раз), *EGR-1* (в 15,2 раза) и *JUNB* (в 13,1 раз). Согласно данным исследования L.Zhao и соавт. [168], в эутопическом эндометрии из 72 различно экспрессируемых генов наиболее сильно повышена экспрессия генов *FOSB* (в 66,12 раз), *FOS* (в 14,54 раза), *EGR-3* (в 13,24 раза), *EGR-1* (в 5,47 раз), *EGR-2* (в 4,41 раза) и *DUSP1* (в 4,35 раз). Полученные результаты также соответствуют данным исследования J.A.Birt и соавт. [109], согласно которому у крыс с эндометриозом яичников обнаружено повышение экспрессии генов *Atf3* (в 2,3 раза), *Klf4* (в 2,3 раза), *Cry1* (в 2,1 раз), *EGR-1* (в 2,1 раз), *OSP94* (в 2,1 раз), *DUSP1* (в 1,7 раз), *Slc23a2* (в 1,5 раза), *Galnt12* (в 1,5 раза), *Klf7* (в 1,5 раза), *JUN* (в 1,5 раза), *Prcc* (в 1,5 раза) и *Pdha1* (в 1,5 раза). Поскольку в данных работах [109, 168, 221] использовались различные методики полногеномных исследований (гибридизация на микрочипах U133 (Affymetrix, США) и NGS-транскриптомов), опубликованные результаты могут служить подтверждением ценности выявленных нами генов как потенциальных биомаркеров НГЭ.

Молекулярные механизмы участия данных генов в патогенезе эндометриоза в настоящий момент описаны не достаточно подробно, однако опубликован ряд исследований посвященных некоторым из них [34, 68, 109, 142, 147, 149, 151, 168, 190, 193, 207, 218, 221, 222, 297, 301, 304, 309].

В нашем исследовании выявлено 19-кратное повышение экспрессии гена *FOS* и 9-кратное повышение экспрессии гена *FOSB* в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ.

Ген *FOS* является геном раннего ответа эстрадиола и членом AP-1 (активирующий протеин-1) семейства транскрипционных факторов. Белковый продукт этого гена является протоонкогенным/транскрипционным фактором, который индуцируется цитокинами, факторами роста и эстрадиолом, и модулирует экспрессию генов участвующих в клеточной пролиферации, дифференцировке, выживаемости и ангиогенезе [221]. Ген *FOS* также играет важную роль в инициации и, при некоторых условиях, пролонгировании воспалительной реакции [221].

Экспрессия гена *FOS* значительно повышена (в 200 раз) в эутопическом эндометрии бабуинов с экспериментально индуцированным эндометриозом [221, 297]. Проведенные исследования [297] показали, что у бабуинов с экспериментально индуцированным эндометриозом в течение развития и прогрессии заболевания уровень мРНК гена *FOS* в эутопическом эндометрии постепенно менялся с 93-кратного до 60-кратного увеличения по сравнению с уровнем в контрольной группе через 6 и 12 месяцев соответственно. Через 15 месяцев после экспериментального индуцирования эндометриоза уровень мРНК гена *FOS* оказался сопоставим (5-кратное увеличение) с уровнем у бабуинов без этого заболевания [297]. Возможно, повышение экспрессии гена *FOS* наиболее значительно в период инициации и активного развития эндометриозных очагов, а значит, возможно, исследование уровня мРНК гена *FOS* поможет выявлять начальные стадии этого заболевания.

Можно предположить, что повышение уровня мРНК гена *FOS* опосредовано гиперэстрогенной активностью, которая связана с этим заболеванием. Хорошо известно, что ген *FOS* индуцируется эстрадиолом. Считается, что эта индукция играет важную роль в эстрадиол-опосредованной пролиферации клеток эутопического эндометрия [297]. Результаты исследований рака молочной железы [68, 151] свидетельствуют о том, что эстрадиол-индуцированное повышение уровня мРНК гена *FOS* может происходить через G-белковые рецепторы, MAPK- и PI3K-внутриклеточные сигнальные каскады. J.L.Kirkland и соавт. [193] продемонстрировали ингибирование эстрадиол-индуцированного гена *FOS* с помощью медроксипрогестерон ацетата, предположив, что опосредованное прогестероном ингибирование пролиферации клеток эутопического эндометрия во время секреторной стадии опосредуется через ингибирование гена *FOS*.

Нарушение функционирования гена *FOS* связывают с развитием иммунологических отклонений и онкогенной трансформацией [304, 309]. Экспрессия гена *FOS*, по данным проведенных исследований [149], является маркером канцерогенеза и неблагоприятным прогностическим фактором при раке

молочной железы, шейки матки, поджелудочной железы и гепатоцеллюлярной карциноме. Постоянная активация этого гена связана с опухолевой прогрессией: повышением инвазивности и усилением ангиогенеза. Данная связь объясняется тем, что фактор транскрипции AP-1 контролирует экспрессию ряда генов, например, генов MMPs (*MMP-1*, *-3*, *-9*, *-13*). Эти ферменты в норме участвуют в процессе реорганизации экстрацеллюлярного матрикса, а нарушение этого процесса может способствовать развитию и прогрессии эндометриoidных очагов [149].

Экспрессия гена *FOSB*, аналогично гену *FOS*, повышается в ответ на различные митогены. Белок *FOSB* является сильным транскрипционным активатором и образует комплекс с белками JUN, JUNB и JUND. *FOSB*, также как и *FOS*, является регулятором жизненного цикла клетки и может компенсировать функции этого белка у нокаутных по *FOS* животных [149]. *FOSB* в комплексе с JUN вызывает Fas/FasL-опосредованный апоптоз клеток. Определено, что *FOSB* может оказывать стимулирующее воздействие на образование опухолей [149].

В нашем исследовании выявлено 10-кратное повышение экспрессии гена *EGR-1*, кодирующего early growth response protein 1 (*EGR-1*), в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ.

Эндометриоз является заболеванием, ассоциированным с бесплодием, которое возникает в результате многочисленных плохо изученных механизмов. Очень важно понять и охарактеризовать сигнальные пути при эндометриозе яичников и перитонеальном эндометриозе, которые приводят к нарушению механизмов овуляции и бесплодию.

Эксперименты на животных [109], связанные с нарушением действия *EGR-1*, подтвердили гипотезу об участии *EGR-1* в овуляции. Изменение экспрессии яичникового *EGR-1* индуцируется повышенной концентрацией TNF- $\alpha$  в перитонеальной жидкости, которая, в свою очередь, связана с наличием эндометриоза яичников и/или перитонеального эндометриоза. Взаимодействия между высоким уровнем TNF- $\alpha$  в перитонеальной жидкости и сверхэкспрессией фолликулярного *Egr-1/EGR-1* при эндометриозе способствует снижению



активности протеаз, что препятствует овуляции [109]. Аномальные гипофизарно-овариальные пути и воздействие воспалительной перитонеальной среды приводят к нарушению в яичнике нормальной временной экспрессии Egr-1/EGR-1 и нижестоящих медиаторов, что влияет на экспрессию протеаз и их ингибиторов, препятствуя овуляции [109]. Возможно, именно с этими механизмами связано нарушение овуляции у пациенток с ЭКЯ.

Известно, что EGR-1 выполняет и другие функции: регулирует клеточный цикл, сигнальные пути, тканевое ремоделирование, а так же дифференцировку и апоптоз [109].

В нашем исследовании выявлено 7-кратное повышение экспрессии гена фосфатазы-1 двойной специфичности (dual specificity phosphatase 1, *DUSP1*, альтернативное название *MKP1*) в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ.

Ген *DUSP1* кодирует фермент фосфатазу, которая дефосфорилируя остатки треонина и тирозина специфически инактивирует MAP-киназы. При онкологических заболеваниях экспрессия гена *DUSP1* может изменяться различным образом в зависимости от заболевания и условий его протекания. Существуют данные, согласно которым у пациенток с раком яичников, молочной железы и легкого, а также гиперэкспрессией этого гена наблюдается резистентность к химиотерапии [147, 218]. В исследованиях А. Melhem и соавт. [34] показано, что гиперэкспрессия этого гена является причиной снижения эффективности лечения.

В нашем исследовании выявлено 6-кратное повышение экспрессии гена *ZFP36* в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ.

Ген *ZFP36* изначально описан как активный регулятор воспалительного ответа [207]. Опубликованные в настоящее время данные свидетельствуют о том, что экспрессия гена *ZFP36* понижена во многих типах раковых клеток при сравнении с нормальными клетками [207, 301]. Более того, повышение экспрессии этого гена противодействует злокачественной трансформации различными способами в зависимости от типа заболевания [207].

Эпителиально-мезенхимальный переход (EMT) – это процесс, заключающийся в превращении клеток эпителия в подвижные мезенхимальные клетки. Продемонстрировано, что *ZFP36* способен индуцировать сдвиг от мезенхимного к эпителиальному фенотипу в разных линиях раковых клеток посредством понижения экспрессии генов *TWIST1* и *SNAIL1*. Снижая экспрессию генов задействованных в развитии рака, продукт гена *ZFP36* положительно влияет на процесс эпителиально-мезенхимального превращения и, по-видимому, способен возвращать клетки к эпителиальному фенотипу [190, 207].

В нашем исследовании выявлено 4-кратное повышение экспрессии генов *jun B proto-oncogene (JUNB)* и *jun proto-oncogene (JUN)* в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ.

Изменение экспрессии этих генов может быть важной причиной нарушения регуляции актинового цитоскелета, что приводит к активации клеточной и фокальной адгезии, способствуя инициации, развитию и прогрессии эндометриоидных очагов [142, 222].

В нашем исследовании выявлено значительное понижение экспрессии генов *forkhead box D4-like 3 (FOXD4L3)*, *periostin*, *osteoblast specific factor (POSTN)* и *JPX transcript, XIST activator (non-protein coding) (JPX)* в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ по сравнению с эутопическим эндометрием пролиферативной стадии пациенток без эндометриоза. Однако данные гены практически не встречаются в других исследованиях по изучению транскрипционного профиля эутопического эндометрия пациенток с эндометриозом, поэтому возможность использования данных генов в качестве биомаркеров НГЭ должна быть неоднократно проверена другими методами.

Таким образом, полученные данные подтверждают гипотезу о том, что процессы, происходящие в эутопическом эндометрии, имеют непосредственное отношение к развитию НГЭ. Изменение экспрессии ряда генов является характерным признаком изменения функциональных свойств эутопического эндометрия пациенток с НГЭ. Такие функциональные изменения возможно и

являются причиной возникновения эндометриозных очагов за пределами полости матки. Дальнейшие исследования сигнальных путей, в которых задействованы выявленные гены, помогут определить механизмы, регулирующие рост и развитие эктопических эндометриозных очагов и предложить способы регуляции этих процессов.

Изучение транскрипционных профилей позволяет выявлять «перспективные биомаркеры» на небольших выборках пациенток, а затем проверять уровень этих биомаркеров на большом количестве пациенток более дешевыми и быстрыми методами (количественная ОТ-ПЦР). По данным количественной ОТ-ПЦР уровень мРНК генов *FOS*, *EGR-1*, *FOSB* и *ZFP36* статистически значимо выше в эктопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ по сравнению с эктопическим эндометрием пролиферативной стадии пациенток без эндометриоза ( $p < 0,05$ , U-тест Манна-Уитни). По данным ROC-анализа в качестве молекулярных маркеров НГЭ в клинической практике могут быть использованы мРНК генов *FOS* ( $>1,481$  о.е., AUC=0,636, 95%ДИ: 0,536-0,736,  $p=0,0076$ ), *EGR-1* ( $>0,192$  о.е., AUC=0,629, 95%ДИ: 0,528-0,731,  $p=0,013$ ), *FOSB* ( $>0,013$  о.е., AUC=0,616, 95%ДИ: 0,514-0,717,  $p=0,026$ ) и *ZFP36* ( $>0,165$  о.е., AUC=0,614, 95%ДИ: 0,512-0,717,  $p=0,028$ ), что позволяет включить данные маркеры в панель маркеров для малоинвазивной диагностики НГЭ. Таким образом, в нашем исследовании определены новые молекулярные маркеры НГЭ в эктопическом эндометрии.

Полученные результаты частично соответствуют данным исследования L.Zhao и соавт. [168], опубликованного в 2017 г., согласно которому транскриптом эктопического эндометрия пациенток с эндометриозом характеризуется наиболее значительным изменением уровней мРНК генов *FOS*, *FOSB*, *EGR-1*, *EGR-2*, *EGR-3*, *DUSP1*, *MMP-11*, *SERPINE1* и *ADA2*. Данные количественной ОТ-ПЦР подтвердили значительное изменение уровней мРНК генов *MMP-11*, *DUSP1*, *FOS*, *SERPINE1* и *ADA2* в эктопическом эндометрии пациенток с эндометриозом.

Проведено исследование экспрессии факторов пролиферации и апоптоза (ki-67, bcl-2), воспалительных факторов (NF-k $\beta$  p65, COX-2), факторов адгезии ( $\beta$ -катенин), эстрогеновых (ER- $\alpha$ ) и прогестероновых (PR- $\alpha$ ) рецепторов в эутопическом эндометрии и капсуле ЭКЯ у пациенток без рецидива ЭКЯ и пациенток с рецидивом ЭКЯ иммуногистохимическим методом.

В нашем исследовании выявлено статистически значимое понижение экспрессии ER- $\alpha$  в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием (в эпителиальном компоненте) как у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p < 0,0001$ , U-тест Манна-Уитни), так и у пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p = 0,00036$ , U-тест Манна-Уитни). Полученные данные соответствуют данным другого исследования [58], согласно которому экспрессия ER- $\alpha$  понижена в эктопической эндометриоидной ткани.

Наиболее высокая экспрессия ER- $\alpha$  обнаружена в стромальном и эпителиальном компонентах эутопического эндометрия пролиферативной стадии по сравнению с эутопическим эндометрием секреторной стадии и капсулой ЭКЯ. Полученные результаты соответствуют данным других исследований [58, 126], согласно которым экспрессия ER- $\alpha$  в основном обнаруживается в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии. Супрессия ER- $\alpha$ , которая наблюдается в секреторную стадию в эутопическом эндометрии, имеет важное значение для успешной имплантации и децидуализации [196, 287].

Экспрессия ER- $\alpha$  в эутопическом эндометрии и капсуле ЭКЯ статистически значимо не различается у пациенток с рецидивом ЭКЯ и пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p > 0,05$ , U-тест Манна-Уитни). Известно, что эктопическая эндометриоидная ткань по сравнению с эутопическим эндометрием женщин без эндометриоза характеризуется повышенным отношением ER- $\beta$ /ER- $\alpha$  и пониженным отношением PR- $\beta$ /PR- $\alpha$  [94, 196], что приводит к увеличению локальной продукции эстрогенов и росту эндометриоидных гетеротопий [196].

В нашем исследовании выявлено статистически значимое понижение экспрессии PR- $\alpha$  в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием как у пациенток с рецидивом ЭКЯ (в стромальном и эпителиальном компонентах)

( $p=0,020$ ,  $p=0,00087$  соответственно, U-тест Манна-Уитни), так и у пациенток без рецидива ЭКЯ (в эпителиальном компоненте) ( $p<0,0001$ , U-тест Манна-Уитни). По данным литературы [57, 58, 249], уровни мРНК гена *PR-β* и его белкового продукта значительно ниже в эктопических эндометриоидных очагах по сравнению с эутопическим эндометрием, а уровень PRs при иммуногистохимическом исследовании эндометриоидной ткани также имеет тенденцию к снижению.

Известно, что эктопическая эндометриоидная ткань не реагирует на действия прогестерона. Фенотип эндометриоидной ткани с резистенцией к прогестерону связан с повышенной способностью к клеточной пролиферации и выживаемости [94, 196]. Пониженное отношение *PR-β/PR-α* и повышенное отношение *ER-β/ER-α* найдено в эктопической эндометриоидной ткани пациенток с эндометриозом по сравнению с эутопическим эндометрием женщин без эндометриоза [94, 196]. Однако является ли изменение экспрессии PRs причиной или следствием прогестероновой резистентности при эндометриозе пока не понятно [35].

Экспрессия *PR-α* в эутопическом эндометрии секреторной стадии и капсуле ЭКЯ (в эпителиальном компоненте) статистически значимо выше у пациенток с рецидивом ЭКЯ по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ ( $p=0,043$ ,  $p=0,023$  соответственно, U-тест Манна-Уитни). По данным ROC-анализа для прогнозирования рецидивирования ЭКЯ в клинической практике может быть использовано исследование экспрессии *PR-α* в эпителиальном компоненте эутопического эндометрия секреторной стадии ( $>280$  баллов,  $AUC=0,833$ , 95%ДИ: 0,628-1,000,  $p=0,0015$ ) и в эпителиальном компоненте капсулы ЭКЯ ( $>20$  баллов,  $AUC=0,769$ , 95%ДИ: 0,558-0,980,  $p=0,013$ ). Полученные результаты соответствуют данным другого исследования [58], согласно которому уровень экспрессии PRs значительно ниже в эктопической эндометриоидной ткани по сравнению с эутопическим эндометрием, в то время как уровень экспрессии PRs в эктопической эндометриоидной ткани значительно выше у пациенток с

рецидивом эндометриоза по сравнению с пациентками без рецидива этого заболевания.

В нашем исследовании выявлено статистически значимое понижение экспрессии ki-67 в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием (в стромальном и эпителиальном компонентах) как у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p=0,00098$ ,  $p<0,0001$  соответственно, U-тест Манна-Уитни), так и у пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p=0,0012$ ,  $p<0,0001$  соответственно, U-тест Манна-Уитни). Экспрессия ki-67 в эутопическом эндометрии и капсуле ЭКЯ статистически значимо не различается у пациенток с рецидивом ЭКЯ и пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p>0,05$ , U-тест Манна-Уитни). S.E.Yalcin и соавт. [123] выявили значимое повышение индекса пролиферации ki-67 у пациенток с рецидивом ЭКЯ по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ. Существует взаимосвязь [123] между индексом пролиферации ki-67 и стадией распространения эндометриоза. Возможно, в данном исследовании [123], увеличение индекса пролиферации ki-67 у пациенток с рецидивом ЭКЯ отражает наличие более тяжелой стадии заболевания.

В нашем исследовании выявлено статистически значимое понижение экспрессии bcl-2 в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием как у пациенток с рецидивом ЭКЯ (в эпителиальном компоненте) ( $p=0,0017$ , U-тест Манна-Уитни), так и у пациенток без рецидива ЭКЯ (в стромальном компоненте) ( $p=0,023$ , U-тест Манна-Уитни). Экспрессия bcl-2 в эутопическом эндометрии и капсуле ЭКЯ статистически значимо не различается у пациенток с рецидивом ЭКЯ и пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p>0,05$ , U-тест Манна-Уитни). Нарушение баланса между про- и антиапоптотическими факторами приводит к аномальной клеточной диссеминации и невозможности правильного ответа на апоптотические стимулы, а также к низкому ответу на терапию, основанную на индуцировании апоптоза клеток. Идентифицировано более 25 членов белкового семейства bcl-2, ответственного за регулирование клеточного апоптоза, и кодируемого геном *Bcl-2*, который находится на хромосоме 18 [293]. Антиапоптотический белок bcl-2 является ключевым регулятором апоптоза и играет важную роль в модуляции

внутреннего апоптотического пути [85, 120, 260, 313]. Белок bcl-2 присутствует на мембранах эндоплазматического ретикулума, ядра и внешней митохондриальной мембране. Белок bcl-2 выполняет антиапоптотическую роль, ингибируя смещение цитохрома C из митохондриальной межмембранной области в цитозоль и предотвращая проапоптотические действия белков Bax и Bak. Таким образом, соотношение между белками bcl-2 и Bax играет важную роль в процессе апоптоза [283, 293]. Экспрессия белка bcl-2 идентифицирована только в эутопическом эндометрии пациенток с эндометриозом по сравнению с эктопическим эндометрием этих же женщин [283, 293], что соответствует результатам нашего исследования. Так же, известно, что экспрессия bcl-2 значительно повышена в эутопическом эндометрии пациенток с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания [313]. Повышение экспрессии bcl-2 способствует ингибированию апоптоза в эутопическом эндометрии пациенток с эндометриозом [40, 120, 313]. Предположительно, эндометриальная ткань этих пациенток имеет повышенный потенциал к десиминации и, попадая в брюшную полость, развивается за пределами полости матки, что является возможным объяснением патогенеза эндометриоза. По данным исследования R.K.Jones и соавт. [189], не выявлено статистически значимых различий между уровнем белка bcl-2 и апоптозом в эктопической эндометриоидной ткани и эутопическом эндометрии здоровых женщин.

В нашем исследовании выявлено повышение экспрессии воспалительных факторов (NF- $\kappa$ B p65, COX-2) в стромальном компоненте эутопического эндометрия пролиферативной стадии у пациенток с рецидивом ЭКЯ по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ, однако статистически значимые различия выявлены только для NF- $\kappa$ B p65 ( $p=0,048$ , U-тест Манна-Уитни).

В нашем исследовании выявлено значительное понижение экспрессии NF- $\kappa$ B p65 в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием (в стромальном компоненте) у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p=0,00086$ , U-тест Манна-Уитни). Экспрессия NF- $\kappa$ B p65 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ статистически значимо ниже у пациенток с рецидивом ЭКЯ по сравнению с пациентками без

рецидива ЭКЯ ( $p=0,0051$ , U-тест Манна-Уитни). По данным ROC-анализа для прогнозирования рецидивирования ЭКЯ в клинической практике может быть использовано исследование экспрессии NF- $\kappa$ B p65 в стромальном компоненте эутопического эндометрия пролиферативной стадии ( $>4$  баллов,  $AUC=0,705$ , 95%ДИ: 0,526-0,884,  $p=0,025$ ) и в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ ( $\leq 3$  баллов,  $AUC=0,773$ , 95%ДИ: 0,617-0,929,  $p=0,0006$ ).

NF- $\kappa$ B является димерным фактором транскрипции, который регулирует экспрессию более 150 генов, вовлеченных в клеточные процессы иммунного ответа, воспалительный процесс, клеточную адгезию, ангиогенез, пролиферацию и апоптоз [62, 145]. NF- $\kappa$ B является ключевым транскрипционным фактором в регуляции экспрессии RANTES, которые индуцируют провоспалительные цитокины и хемокины, и обычно понижен в эндометриальной ткани [260].

Данные проведенных исследований [172, 268] относительно иммунореактивности NF- $\kappa$ B у пациенток с рецидивирующим течением ЭКЯ неоднозначны. По данным исследования F.Shen и соавт. [172], иммунореактивность NF- $\kappa$ B p65 значительно выше у пациенток с рецидивом ЭКЯ по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ. По данным исследования A.R.Nan и соавт. 2017 г. [268], экспрессия NF- $\kappa$ B p65 значительно ниже в группе пациенток с рецидивом ЭКЯ по сравнению с группой пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p=0,036$ ).

Поскольку NF- $\kappa$ B p65, как фактор транскрипции, участвует в регуляции экспрессии COX-2 и многих других генов, регулирующих пролиферацию, апоптоз, ангиогенез, производство цитокинов и инвазию, его иммунореактивность является биомаркером экспрессии COX-2.

В нашем исследовании выявлено значительное повышение экспрессии COX-2 в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием (в стромальном и эпителиальном компонентах) у пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p<0,0001$ ,  $p=0,0011$  соответственно, U-тест Манна-Уитни). Экспрессия COX-2 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ статистически значимо ниже у пациенток с рецидивом ЭКЯ по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ ( $p=0,0012$ , U-



тест Манна-Уитни). По данным ROC-анализа для прогнозирования рецидивирования ЭКЯ в клинической практике может быть использовано исследование экспрессии СОХ-2 в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ ( $\leq 0$  баллов, AUC=0,815, 95% ДИ: 0,680-0,950,  $p < 0,0001$ ).

СОХ-2, индуцибельная изоформа фермента, отвечает за конверсию арахидоновой кислоты в простагландины и, как сообщалось, вовлечена в ингибирование апоптоза, индукцию ангиогенеза и иммуносупрессию. Экспрессия СОХ-2 может быть заметно увеличена некоторыми факторами роста, онкогенами и факторами роста опухоли [175]. СОХ-2 является ферментом, влияющим на скорость простагландинового синтеза, и играет важную роль в воспалительных процессах и пролиферации при эндометриозе [62, 82]. Некоторые исследователи [53] сообщали о более высоких уровнях простагландинов в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом по сравнению с женщинами без этого заболевания. Естественно, что факторы, регулирующие простагландиновый синтез, становятся потенциальными кандидатами для предикции рецидивирования эндометриоза после хирургического лечения.

Недавно было показано, что СОХ-2 регулирует выживаемость, миграцию и инвазию эндометриальных клеток через множество механизмов [83]. Поэтому, не удивительно, что селективные ингибиторы СОХ-2 препятствуют имплантации эутопического эндометрия на эктопических сайтах, подавляют рост ксенотрансплантатов эндометриоза, индуцируют регресс аутологичных эндометриоидных трансплантатов и эффективны при лечении эндометриоз-ассоциированного болевого синдрома [82].

Данные проведенных исследований [82, 175] относительно экспрессии СОХ-2 у пациенток с рецидивирующим течением ЭКЯ неоднозначны. По данным исследования А. Fagotti и соавт. [36], экспрессия СОХ-2 не коррелирует с клинико-патологическими характеристиками и симптомами у пациенток с эндометриозом. По данным исследования L. Yuan и соавт. [82], экспрессия СОХ-2 значительно выше у пациенток с рецидивом эндометриоза по сравнению с пациентками без рецидива этого заболевания и эутопическим эндометрием

пациенток без эндометриоза. По данным исследования F.Fanfani и соавт. [175], повышенная экспрессия COX-2 характерна для группы пациенток с более низким уровнем рецидивирования ЭКЯ и более длительным безрецидивным периодом.

В нашем исследовании выявлено значительное повышение экспрессии  $\beta$ -катенина в капсуле ЭКЯ по сравнению с эутопическим эндометрием (в стромальном компоненте) у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p=0,018$ , U-тест Манна-Уитни). Экспрессия  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте эутопического эндометрия имеет тенденцию к повышению у пациенток с рецидивом ЭКЯ по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ ( $p>0,05$ , U-тест Манна-Уитни). Экспрессия  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ статистически значимо выше у пациенток с рецидивом ЭКЯ по сравнению с пациентками без рецидива ЭКЯ ( $p=0,013$ , U-тест Манна-Уитни). По данным ROC-анализа для прогнозирования рецидивирования ЭКЯ в клинической практике может быть использовано исследование экспрессии  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте капсулы ЭКЯ ( $>2$  баллов, AUC=0,752, 95% ДИ: 0,582-0,921,  $p=0,0036$ ).

$\beta$ -катенин – главный структурный компонент межклеточных адгезионных соединений (адгезионные контакты), которые очень важны для поддержания эпителиальных слоев. Показано, что гипоксия/HIF-1 $\alpha$  активирует  $\beta$ -катениновый сигнальный путь, способствуя клеточной миграции и инвазии в процессе развития эндометриоза [166]. Кроме того,  $\beta$ -катенин также является нижним эффектором в Wnt-сигнальном пути, который играет ключевую роль в регуляции клеточного роста и развития [166].

Существует множество медикаментозных и хирургических методов лечения эндометриоза, однако, его лечение должно быть максимально индивидуализированно с учетом каждого конкретного случая, включая иммуногистохимический анализ капсулы ЭКЯ и эутопического эндометрия. Иммуногистохимическое исследование экспрессии PR- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B p65, COX-2 и  $\beta$ -катенина в капсуле ЭКЯ и экспрессии PR- $\alpha$  и NF- $\kappa$ B p65 в эутопическом эндометрии позволит сразу после оперативного лечения определять пациенток с высоким риском рецидивирования ЭКЯ.

Консолидация хирургического и долгосрочного медикаментозного лечения имеет решающее значение, так как эндометриоз является хроническим рецидивирующим заболеванием. Мы считаем, что терапевтическое ведение после оперативного лечения следует выбирать в зависимости от жалоб, возраста и репродуктивных планов пациентки, суммарного диаметра ЭКЯ, стадии распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г., наличия/отсутствия хирургического лечения эндометриоза в анамнезе, овариального резерва, а также иммуногистохимического профиля капсулы ЭКЯ и/или эутопического эндометрия по выявленным молекулярным предикторам рецидивирования ЭКЯ. Определив пациенток с высоким риском рецидивирования ЭКЯ и отсутствием желания реализовать репродуктивную функцию в ближайшее время, ГТ в непрерывном режиме может быть назначена только этим пациенткам, что снизит ненужные расходы и не снизит фертильность у всех женщин. Кроме того, данная группа пациенток сможет своевременно сдать свои яйцеклетки в банки ооцитов, что позволит им реализовать свою репродуктивную функцию в дальнейшем. В то же время, пациенткам с высоким риском рецидивирования ЭКЯ и желанием реализовать репродуктивную функцию может быть назначена терапия агнРГ (гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев), что повысит фертильность у этих женщин на фоне «ребаунд-эффекта». Таким образом, пациентки с высоким риском рецидивирования ЭКЯ успеют реализовать свою репродуктивную функцию до наступления рецидива ЭКЯ. Также, учитывая, что по данным ряда исследований беременность является протективным фактором по отношению к рецидивированию эндометриоза, скорейшая реализация репродуктивной функции в данной группе пациенток отсрочит или даже предотвратит рецидивирование ЭКЯ.

Дальнейшие исследования выявленных предикторов рецидивирования ЭКЯ позволят изучить молекулярные механизмы, лежащие в основе патогенеза рецидивирования ЭКЯ, что позволит воздействовать на эти механизмы для устранения фундаментальных причин рецидива этого заболевания.

## ВЫВОДЫ

1. Комплексное лечение пациенток с ЭКЯ, включающее хирургическое удаление ЭКЯ и очагов НГЭ лапароскопическим доступом с последующей гормональной терапией, является эффективным как в уменьшении жалоб на хронические тазовые боли в 80,8%, диспареунию в 100%, дисменорею в 87,5% и меноррагию в 85,8%, так и в восстановлении репродуктивной функции в 61,9% и профилактике рецидивирования ЭКЯ в 80,3%.

2. Факторами риска рецидивирования ЭКЯ являются: суммарный диаметр ЭКЯ >4,5 см, III-IV стадия распространения эндометриоза и наличие оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе. Частота рецидивирования ЭКЯ за период наблюдения 1,5 года после оперативного лечения у пациенток, не получавших гормональную терапию, составляет 19,7%, у пациенток, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев, – 17,9% ( $p=0,830$ ) и у пациенток, получавших диеногест в дозе 2 мг в течение 12 месяцев, рецидивирования ЭКЯ не наблюдалось ( $p=0,041$ ).

3. Частота наступления беременности за период наблюдения 1,5 года после оперативного лечения у пациенток, получавших гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев, составляет 61,9%, частота наступления беременности у пациенток, не получавших гормональную терапию, составляет 25,8% ( $p=0,0092$ ).

4. Анализ частот генотипов по локусу rs10859871 в группе пациенток с НГЭ по сравнению с группой пациенток без эндометриоза показал, что носительство гомозиготного генотипа CC локуса rs10859871, расположенного вблизи гена *VEZT*, ассоциировано с риском развития НГЭ (ОШ=5,634; 95%ДИ: 1,949-16,288;  $p=0,00043$ , аутосомно-рецессивная модель наследования).

5. Частота хронического эндометрита и полипов эндометрия значимо выше у пациенток с НГЭ (20,7% и 20,7%) по сравнению с пациентками без эндометриоза (10,0% и 8,8%,  $p=0,034$  и  $p=0,017$ ) и не зависит от стадии распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г.

5. По данным транскриптомного исследования и количественной ОТ-ПЦР в эутопическом эндометрии пролиферативной стадии пациенток с НГЭ повышена экспрессия генов *FOS* ( $p=0,013$ ), *EGR-1* ( $p=0,019$ ), *FOSB* ( $p=0,035$ ) и *ZFP36* ( $p=0,039$ ). Значимыми молекулярными маркерами НГЭ в эутопическом эндометрии являются уровни мРНК генов *FOS*  $>1,481$  о.е., *EGR-1*  $>0,192$  о.е., *FOSB*  $>0,013$  о.е. и *ZFP36*  $>0,165$  о.е.

6. В капсуле ЭКЯ у пациенток с рецидивом ЭКЯ повышена экспрессия PR- $\alpha$  ( $p=0,023$ ) в эпителиальном компоненте и  $\beta$ -катенина ( $p=0,013$ ) в стромальном компоненте и понижена экспрессия NF-k $\beta$  p65 ( $p=0,0051$ ) и COX-2 ( $p=0,0012$ ) в стромальном компоненте. В эутопическом эндометрии у пациенток с рецидивом ЭКЯ повышена экспрессия PR- $\alpha$  ( $p=0,043$ ) в секреторную стадию в эпителиальном компоненте и NF-k $\beta$  p65 ( $p=0,048$ ) в пролиферативную стадию в стромальном компоненте. Значимыми молекулярными предикторами рецидивирования ЭКЯ являются уровни экспрессии PR- $\alpha$   $>20$  баллов, NF-k $\beta$  p65  $\leq 3$  баллов, COX-2  $\leq 0$  баллов и  $\beta$ -катенина  $>2$  баллов в капсуле ЭКЯ и PR- $\alpha$   $>280$  баллов в секреторную стадию и NF-k $\beta$  p65  $>4$  баллов в пролиферативную стадию в эутопическом эндометрии.

7. Капсула ЭКЯ характеризуется понижением экспрессии ER- $\alpha$  в эпителиальном компоненте у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p<0,0001$ ) и пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p=0,00036$ ), PR- $\alpha$  в стромальном и эпителиальном компонентах у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p=0,020$ ,  $p=0,00087$ ) и в эпителиальном компоненте у пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p<0,0001$ ), ki-67 в стромальном и эпителиальном компонентах у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p=0,00098$ ,  $p<0,0001$ ) и пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p=0,0012$ ,  $p<0,0001$ ), bcl-2 в эпителиальном компоненте у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p=0,0017$ ) и в стромальном компоненте у пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p=0,023$ ) и NF-k $\beta$  p65 в стромальном компоненте у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p=0,00086$ ), а также повышением экспрессии COX-2 в стромальном и эпителиальном компонентах у пациенток без рецидива ЭКЯ ( $p<0,0001$ ,  $p=0,0011$ ) и  $\beta$ -катенина в стромальном компоненте у пациенток с рецидивом ЭКЯ ( $p=0,018$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенткам с ЭКЯ рекомендовано проводить комплексное лечение, включающее полное хирургическое удаление капсулы кисты в пределах здоровых тканей и иссечение всех видимых эндометриoidных гетеротопий с последующим назначением гормональной терапии.

2. Высокая частота рецидивирования ЭКЯ (19,7% у пациенток, не получавших гормональную терапию) и наличие жалоб только у 52,6% пациенток с рецидивом ЭКЯ за период 1,5 года после оперативного лечения подчеркивает важность профилактики рецидивирования и необходимость регулярных обследований пациенток в послеоперационном периоде, что поможет избежать повторного хирургического вмешательства и сохранить фертильность.

3. Гормональную терапию пациенткам с ЭКЯ в послеоперационном периоде необходимо назначать индивидуализировано в зависимости от возраста, жалоб и состояния репродуктивной системы пациентки, суммарного диаметра ЭКЯ, стадии распространения эндометриоза по классификации ASRM 1996 г., наличия/отсутствия оперативных вмешательств по поводу эндометриоза в анамнезе, а также иммуногистохимического профиля капсулы ЭКЯ и/или эутопического эндометрия. При наличии факторов риска рецидивирования ЭКЯ и незаинтересованности в реализации репродуктивной функции рекомендовано биобанкирование ооцитов и последующее назначение пролонгированной гормональной терапии: диеногест в дозе 2 мг в непрерывном режиме. При наличии факторов риска рецидивирования ЭКЯ, возрасте до 35 лет, нормальном овариальном резерве и желании реализовать репродуктивную функцию рекомендовано назначение аГнРГ: гозерелин в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней в течение 3-6 месяцев. При отсутствии факторов риска рецидивирования ЭКЯ и желании реализовать репродуктивную функцию рекомендовано планирование беременности в естественном цикле через 3-6 месяцев после оперативного лечения. При отсутствии факторов риска рецидивирования ЭКЯ и

незаинтересованности в реализации репродуктивной функции может быть рекомендована контрацепция до планирования беременности.

4. Для прогнозирования рецидивирования ЭКЯ может быть использована разработанная формула прогноза:

$$P(\text{РЭКЯ}) = \left( \frac{1}{1 + e^{-z}} \right)$$

где P (РЭКЯ) – вероятность развития рецидива ЭКЯ; e – основание натурального логарифма (e = 2,72); z = 0,353 x суммарный диаметр ЭКЯ + 2,622 x оперативные вмешательства по поводу эндометриоза в анамнезе (1-да, 0-нет) – 4,549.

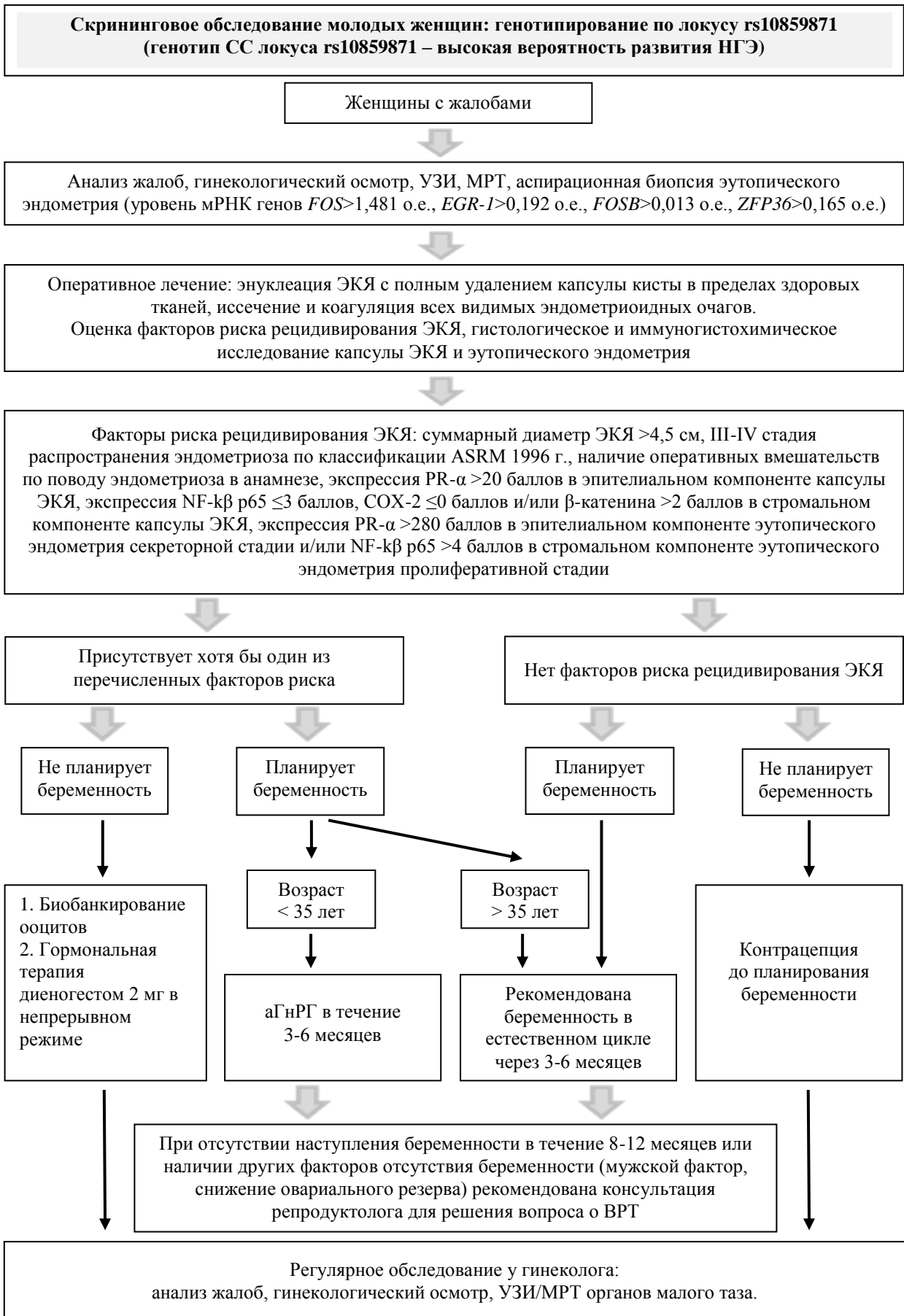
5. Гомозиготный генотип CC локуса rs10859871 является генетическим маркером развития НГЭ, что позволяет включить данный локус в программу скринингового обследования молодых женщин для выявления вероятности развития НГЭ.

6. В качестве молекулярных маркеров для малоинвазивной диагностики НГЭ в клинической практике могут быть использованы мРНК генов *FOS*, *EGR-1*, *FOSB* и *ZFP36*. Создание и внедрение в клиническую практику диагностических систем на основе количественной ОТ-ПЦР по детекции мРНК этих генов в эутопическом эндометрии позволит оптимизировать раннюю диагностику НГЭ.

7. Иммуногистохимическое исследование экспрессии PR-α, NF-κβ p65, COX-2 и β-катенина в капсуле ЭКЯ и PR-α и NF-κβ p65 в эутопическом эндометрии позволит сразу после оперативного лечения определять пациенток с высоким риском рецидивирования ЭКЯ и оптимально индивидуализировать послеоперационную тактику ведения пациенток с ЭКЯ.

8. Обследование и ведение пациенток с НГЭ рекомендовано проводить в соответствии с разработанным алгоритмом, который включает генотипирование по локусу rs10859871, своевременную диагностику, в том числе с учетом молекулярно-биологических особенностей эутопического эндометрия, проведение адекватного оперативного лечения и оценку факторов риска рецидивирования ЭКЯ, а также иммуногистохимическое исследование капсулы ЭКЯ и эутопического эндометрия по выявленным предикторам рецидивирования.

## Алгоритм обследования и ведения пациенток с НГЭ до и после оперативного лечения





**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

аГнРГ – агонисты гонадотропин-рилизинг гормона

ГТ – гормональная терапия

ВАК – Высшая аттестационная комиссия

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИКР – интерквартильный размах

ИМТ – индекс массы тела

КОК – комбинированные оральные контрацептивы

М – медиана

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

МРТ – магнитно-резонансная томография

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

о.е. – относительные единицы

ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с предварительной реакцией обратной транскрипции

ОШ – отношение шансов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РКИ – рандомизированное контролируемое исследование

УЗИ – ультразвуковое исследование

ЭКГ – электрокардиография

ЭКЯ – эндометриоидная киста яичника/эндометриоидные кисты яичников

АМН (antimullerian hormone) – антимюллеров гормон

АМНRII (AMH receptor II) – рецептор II антимюллерового гормона

АpoE (apolipoprotein E) – аполипопротеин E

ASRM (American Society for Reproductive Medicine) – Американское общество репродуктивной медицины

AUC (area under curve) – показатель «площадь под кривой»

bcl-2 (B-cell lymphoma 2) – регулятор апоптоза

CDKN2B-AS (cyclin-dependent kinase inhibitor 2B antisense RNA) – антисмысловая РНК ингибитора циклин-зависимой киназы 2В

COX-2 (cyclooxygenase-2) – циклооксигеназа-2

DUSP1 (dual-specificity phosphatase-1) – фосфатаза-1 двойной специфичности

*EGR-1* (early growth response 1) – ген, кодирующий Early growth response protein 1

ER- $\alpha$  (estrogen receptor alpha) – эстрогеновый рецептор- $\alpha$

ER- $\beta$  (estrogen receptor beta) – эстрогеновый рецептор- $\beta$

*ESR1* – ген эстрогенового рецептора- $\alpha$

*ESR2* – ген эстрогенового рецептора- $\beta$

*FOS* (FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog) – FBJ гомолог вирусного онкогена остеосаркомы мышей

*FOSB* (FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B) – FBJ гомолог В вирусного онкогена остеосаркомы мышей

HIF-1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ ) – гипоксия-индуцируемый фактор-1 $\alpha$

HOXA10 (homeobox A10) – гомеобокс A10

HOXA11 (homeobox A11) – гомеобокс A11

17 $\beta$ -HSD (17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase) – 17- $\beta$  гидроксистероиддегидрогеназа

IL (interleukin) – интерлейкин

JAM-1 (junctional adhesion molecule-1) – молекула межклеточной адгезии-1

*JUN* (jun proto-oncogene) – протоонкоген семейства c-Jun

*JUNB* (jun B proto-oncogene) – протоонкоген В семейства c-Jun

ki-67 – маркер клеточной пролиферации

МАРК (mitogen-activated protein kinase) – митоген-активированная протеинкиназа

MMP (matrix metalloproteinase) – матриксная металлопротеиназа

MMR (DNA mismatch repair) – система репарации ДНК

MSI (microsatellite instability) – микросателлитная нестабильность

NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, nuclear factor kB) – ядерный фактор «каппа-би»

*NR5A1* (nuclear receptor subfamily 5, group A, member 1) – ген, кодирующий стероидогенный фактор-1

PGE2 (prostaglandin E2) – простагландин E2

*POSTN* (periostin) – ген периостина

PR- $\alpha$  (progesterone receptor- $\alpha$ ) – прогестероновый рецептор- $\alpha$

PR- $\beta$  (progesterone receptor- $\beta$ ) – прогестероновый рецептор- $\beta$

PTEN (phosphatase and tensin homolog) – фосфатаза с двойной субстратной специфичностью, продукт гена *PTEN*

PTGS2 (prostaglandin-endoperoxide synthase, cyclooxygenase-2) – простагландиновая эндопероксидная синтетаза-2, также известная как циклооксигеназа-2

PGF2 $\alpha$  (prostaglandin F2 $\alpha$ ) – простагландин F2 $\alpha$

PGE2 (prostaglandin E2) – простагландин E2

RANTES (Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted) – моноцитарный хемотаксический белок, фактор регуляции активности экспрессии и секреции нормальных Т-лимфоцитов

*RHOC* (ras homolog gene family, member C) – член C семейства генов гомологичных Ras

ROC (receiver operating characteristic) – операционная характеристика

ROS (reactive oxygen species) – реакционноспособные виды кислорода

SF-1 (steroidogenic factor 1) – стероидогенный фактор-1

SNP (single nucleotide polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм

TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) – трансформирующий фактор роста- $\beta$

TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinases) – тканевой ингибитор металлопротеиназ

TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) – фактор некроза опухоли- $\alpha$

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

*VEZT* (vezatin) – ген везатина

*ZNF366* (zinc finger protein 366) – ген, кодирующий цинк-пальцевый белок 366

*ZFP36* (zinc finger protein 36) – ген, кодирующий цинк-пальцевый белок 36

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Адамян, Л.В. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных / Адамян Л.В. [и др.] – Москва, 2013. – С. 7-27.
2. Адамян, Л.В. Генетические аспекты гинекологических заболеваний / Адамян Л.В., Спицын В.А., Андреева Е.Н. – М: ГЭОТАРМедиа, 2008. – С. 215.
3. Адамян, Л.В. Генитальный эндометриоз: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение: методическое пособие для врачей / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева. – М., 2001. – С. 27.
4. Адамян, Л.В. Клинический профиль российских пациенток с диагнозом «генитальный эндометриоз», получающих лечение агонистом гонадотропинового релизин гормона. Результаты российского открытого многоцентрового исследования / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева, Е.Л. Яроцкая // Проблемы репродукции. – 2011. – № 2. – С. 50–62.
5. Адамян, Л.В. Молекулярные аспекты патогенеза эндометриоза / Адамян Л.В., Азнаурова Я.Б. // Проблемы репродукции. – 2015. – №2. – С.67-77.
6. Адамян, Л.В. Роль современной гормономодулирующей терапии в комплексном лечении генитального эндометриоза / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева // Проблемы репродукции. – 2011. – № 6. – С. 66-77.
7. Адамян, Л.В. Современные технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков. – М., 2006. – С. 216.
8. Адамян, Л.В. Современный взгляд на проблему эндометриоза / Л.В. Адамян, Е.Л. Яроцкая, В.Д. Чупрынин // Качество жизни. Медицина. Болезни органов репродуктивной системы. – 2004. – Т. 3, № 6. – С. 21-27.
9. Адамян, Л.В. Эволюция гормональной терапии эндометриоза (обзор литературы) / Адамян Л.В., Осипова А.А., Сонова М.М. // Проблемы репродукции. – 2006. – № 5. – С. 11–16.

10. Адамян, Л. В. Эндометриозы: Руководство для врачей / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н. Андреева. – М.: Медицина, 2006. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – С. 416.
11. Бурлев, В.А. Ангиогенез в развитии перитонеального эндометриоза (обзор литературы) / В.А. Бурлев, С.В. Павлович // Проблемы репродукции. – 2003. – №2. – С. 42-47.
12. Бурлев, В.А. Апоптоз и пролиферативная активность в эндометрии при перитонеальном эндометриозе / В.А. Бурлев, С.В. Павлович. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – №141 (2). – С. 165.
13. Бурлев, В.А. Эктопический эндометрий: пролиферативная активность и апоптоз у больных с активной и неактивной формами перитонеального эндометриоза / В.А. Бурлев // Проблемы репродукции. – 2012. – №6. – С. 7-13.
14. Глубокий инфильтративный эндометриоз: послеоперационные рецидивы и возможные пути их профилактики / Г.Е. Чернуха [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 8. – С. 39-46.
15. Иммуногистохимические методы: руководство. Пер. с англ. под ред. Г.А. Франка и П.Г. Малькова // М., 2011. – С. 224.
16. Кулаков, В.И. Эндоскопия в гинекологии: руководство для врачей / В.И. Кулаков, Л.В. Адамян. – М.: Медицина, 2000.
17. Кулаков, В.И. Гинекология. Национальное руководство / В.И. Кулаков, Г.М. Савельева, И.Б. Манухин. – М.: Геотар-Медиа, 2009.
18. Марченко, Л.А. Современный взгляд на отдельные аспекты эндометриоза / Л.А. Марченко, Л.М. Ильина // Проблемы репродукции. – 2001. – № 1. – С. 61-66.
19. Молекулярно-биологические особенности эктопического и эутопического эндометрия при генитальном эндометриозе / О.В. Зайратьянц [и др.] // Архив патологии. – 2010. - №5. – С. 6-12.
20. Новые патогенетические аспекты распространенного инфильтративного эндометриоза: теории и практика / Л.В. Адамян [и др.] // Проблемы репродукции. – 2010. – № 4. – С. 31-36.

21. Оперативная гинекология / [Краснопольский В.И. и др.] – М.: МЕДпресс-информ, 2010.
22. Принципы хирургического лечения распространенных форм генитального эндометриоза с поражением соседних органов / В.И. Краснопольский [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2000. – № 3. – С. 31
23. ПЦР «в реальном времени» / [Д.В. Ребриков и др.] – БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – С. 1-215.
24. Савельева, Г.М. Гинекология / Г.М. Савельева, В.Г. Бреусенко. – М.: ГЭОТАР, 2004.
25. Разработка комплекса тест-систем на основе ОТ-ПЦР в режиме реального времени для определения цитокинового профиля в мононуклеарных клетках крови и синовиальной жидкости при ревматоидном артрите / Трофимов Д.Ю. [и др.] // Медицинская иммунология. – 2008. – Т. 10, № 6. – С. 563–570.
26. Сметник, А.А. Эстрогеновые рецепторы и их функции (обзор литературы) / А.А. Сметник // Проблемы репродукции. – 2011. – №3. – С. 31-36.
27. Унанян, А.Л. Эндометриоз и репродуктивное здоровье женщин / А.Л. Унанян // Акушерство. Гинекология. Репродукция. – 2010. – Т. 4, № 3. – С. 6-11.
28. Aberrant DNA methylation status of endometriosis: epigenetics as the pathogenesis, biomarker and therapeutic target / K. Nasu [et al.] // J Obstet Gynaecol Res. – 2011. – Vol. 37, №7. – P. 683-695.
29. Aberrant expression of leptin in human endometriotic stromal cells is induced by elevated levels of hypoxia inducible factor-1alpha / M.H. Wu [et al.] // Am J Pathol. – 2007. – Vol. 170, №2. – P. 590-598.
30. Aberrant telomerase expression in the endometrium of infertile women with deep endometriosis / F.A. Mafra [et al.] // Arch Med Res. – 2014. – Vol. 45, №1. – P. 31-35.
31. A comparison of the effect of short-term aromatase inhibitor (letrozole) and GnRH agonist (triptorelin) versus case control on pregnancy rate and symptom and sign recurrence after laparoscopic treatment of endometriosis / S. Alborzi [et al.] // Arch Gynecol Obstet. – 2011. – Vol. 284, №1. – P. 105-110.

32. Activated glucocorticoid and eicosanoid pathways in endometriosis / D. Monsivais [et al.] // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 98, №1. – P. 117-125.
33. Adamson, G.D. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system / G.D. Adamson, D.J. Pasta // *Fertil Steril.* – 2010. – Vol. 94, №5. – P. 1609-1615.
34. Administration of glucocorticoids to ovarian cancer patients is associated with expression of the anti-apoptotic genes SGK1 and MKP1/DUSP1 in ovarian tissues / A. Melhem [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2009. – Vol. 15, №9. – P. 3196-3204.
35. Altered expression of progesterone receptor isoforms A and B in human eutopic endometrium in endometriosis patients / M.M. Wölfler [et al.] // *Ann Anat.* – 2016. – Vol. 206. – P. 1-6.
36. Analysis of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in different sites of endometriosis and correlation with clinico-pathological parameters / A. Fagotti [et al.] // *Hum Reprod.* – 2004. – Vol. 19, №2. – P. 393-397.
37. Antiangiogenic agents are effective inhibitors of endometriosis / M.L. Hull [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2003. – Vol. 88, №6. – P. 2889-2899.
38. Apoptosis and endometriosis / F. Taniguchi [et al.] // *Front Biosci (Elite Ed).* – 2011. – Vol. 1, №3. – P. 648-662.
39. Apoptosis and endometriosis / T. Harada [et al.] // *Front Biosci.* – 2007. – Vol. 12. – P. 3140-3151.
40. Apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis / G.F. Meresman [et al.] // *Fertil Steril.* – 2000. – Vol. 74, №4. – P. 760-766.
41. Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis / W.P. Dmowski [et al.] // *Hum Reprod.* – 2001. – Vol. 16, №9. – P. 1802-1808.
42. Apoptosis in human endometrium and endometriosis / T. Harada [et al.] // *Hum Reprod Update.* – 2004. – Vol. 10, №1. – P. 29-38.
43. Aromatase inhibition for refractory endometriosis-related chronic pelvic pain / F. Abushahin [et al.] // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 96, №4. – P. 939-942.

44. Aromatase inhibitor treatment limits progression of peritoneal endometriosis in baboons / D. Langoi [et al.] // *Fertil Steril.* – 2013. – Vol. 99, №3. – P. 656-662.
45. Aromatase inhibitors prevent the estrogen rise associated with the flare effect of gonadotropins in patients treated with GnRH agonists / M.A. Bedaiwy [et al.] // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol. 91, (4 Suppl). – P. 1574-1577.
46. Association between endometriosis and genetic polymorphisms of the estradiol-synthesizing enzyme genes HSD17B1 and CYP19 / M. Tsuchiya [et al.] // *Hum Reprod.* – 2005. – Vol. 20, №4. – P. 974-978.
47. Association between genetic variants of the VEGFR-2 gene and the risk of developing endometriosis in Northern Chinese Women / S. Kang [et al.] // *Gynecol Obstet Invest.* – 2013. – Vol. 76, №1. – P. 32-37.
48. Association of CDKN2B-AS and WNT4 genetic polymorphisms in Korean patients with endometriosis / G.H. Lee [et al.] // *Fertil Steril.* – 2014. – Vol. 102, №5. – P. 1393-1397.
49. Association of matrix metalloproteinases' polymorphisms of MMP3 and MMP9 with development of genital endometriosis / M.I. Iarmolinskaia [et al.] // *Genetika.* – 2014. – Vol. 50, №2. – P. 230-235.
50. Association of the vascular endothelial growth factor gene polymorphisms (-460C/T, +405G/C and +936T/C) with endometriosis: a meta-analysis / S. Xu [et al.] // *Ann Hum Genet.* – 2012. – Vol. 76, №6. – P. 464-471.
51. Association study of the TNF- $\alpha$  -1031T/C and VEGF +450G/C polymorphisms with susceptibility to endometriosis / K. Saliminejad [et al.] // *Gynecol Endocrinol.* – 2013. – Vol. 29, №11. – P. 974-977.
52. Associations between various possible promoter polymorphisms of MMPs genes and endometriosis risk: a meta-analysis / H. Yang [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2016. – Vol. 205. – P. 174-188.
53. Badawy, S.Z. Peritoneal fluid prostaglandins in various stages of the menstrual cycle: role in infertile patients with endometriosis / S.Z. Badawy, L. Marshall, V. Cuenca // *Int J Fertil.* – 1985. – Vol. 30, №2. – P. 48-52.



54. Bazot, M. Diagnosis of deep endometriosis: clinical examination, ultrasonography, magnetic resonance imaging, and other techniques / M. Bazot, E. Daraï // *Fertil Steril.* – 2017. – Vol. 108, №6. – P. 886-894.
55. Bedaiwy, M.A. Long-term medical management of endometriosis with dienogest and with a gonadotropin-releasing hormone agonist and add-back hormone therapy / M.A. Bedaiwy, C. Allaire, S. Alfaraj // *Fertil Steril.* – 2017. – Vol. 107, №3. – P. 537-548.
56. Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis / A. Pizzo [et al.] // *Gynecol Obstet Invest.* – 2002. – Vol. 54, №2. – P. 82-87.
57. Beliard, A. Reduction of apoptosis and proliferation in endometriosis / A. Béliard, A. Noël, J.M. Foidart // *Fertil Steril.* – 2004. – Vol. 82, №1. – P. 80-85.
58. Bergqvist, A. Estrogen and progesterone receptors in endometriotic tissue and endometrium: comparison according to localization and recurrence / A. Bergqvist, M. Fernö // *Fertil Steril.* – 1993. – Vol. 60, №1. – P. 63-68.
59. Bińkowska, M. Progestogens in menopausal hormone therapy / M. Bińkowska, J. Woron // *Prz Menopauzalny.* – 2015. – Vol. 14, №2. – P. 134-143.
60. Blaschuk, O.W. Plasma membrane components of adherens junctions (Review) / O.W. Blaschuk, T.M. Rowlands // *Mol Membr Biol.* – 2002. – Vol. 19, №2. – P. 75-80.
61. BMP-7 blocks the effects of TGF- $\beta$ -induced EMT in cholangiocarcinoma / K. Duangkumpha [et al.] // *Tumour Biol.* – 2014. – Vol. 35, №10. – P. 9667-9676.
62. Bozdog, G. Recurrence of endometriosis: risk factors, mechanisms and biomarkers / G. Bozdog // *Womens Health (Lond).* – 2015. – Vol. 11, №5. – P. 693-699.
63. Brosens, I. Endometriosis in adolescents is a hidden, progressive and severe disease that deserves attention, not just compassion / I. Brosens, S. Gordts, G. Benagiano // *Hum Reprod.* – 2013. – Vol. 28, №8. – P.2026-2031.
64. Bulun, S.E. Endometriosis / S.E. Bulun // *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 360, №3. – P. 268-279.

65. Burney, R.O. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis / R.O. Burney, L.C. Giudice // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 98, №3. – P. 511-519.
66. Carmeliet, P. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis / P. Carmeliet, R.K. Jain // *Nature.* – 2011. – Vol. 473, №7347. – P. 298-307.
67. Cell growth effects of leuprolide on cultured endometrioma cells / D. Levine [et al.] // *J Reprod Med.* – 2007. – Vol. 52, №7. – P. 581-584.
68. c-Fos suppresses systemic inflammatory response to endotoxin / N. Ray [et al.] // *Int Immunol.* – 2006. – Vol. 18, №5. – P. 671-677.
69. Chang, F. Raf-induced cell cycle progression in human TF-1 hematopoietic cells / F. Chang, L.S. Steelman, J.A. McCubrey // *Cell Cycle.* – 2002. – Vol. 1, №3. – P. 220-226.
70. Chemokine CCL2 enhances survival and invasiveness of endometrial stromal cells in an autocrine manner by activating Akt and MAPK/Erk1/2 signal pathway / M.Q. Li [et al.] // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 97, №4. – P. 919-929.
71. Clinical significance of the nuclear receptor co-regulator DC-SCRIPT in breast cancer: an independent retrospective validation study / A.M. Sieuwerts [et al.] // *Breast Cancer Res.* – 2010. – Vol. 12, №6. - Article ID R103.
72. Clinical study on the effectiveness and safety of combined laparoscopy and gonadotropin-releasing hormone agonist in the treatment of endometriosis / J.H. Song [et al.] // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2013. – Vol. 48, №8. – P. 584-588.
73. Collagen gel contractility is enhanced in human endometriotic stromal cells: a possible mechanism underlying the pathogenesis of endometriosis-associated fibrosis / A. Yuge [et al.] // *Hum Reprod.* – 2007. – Vol. 22, №4. – P. 938-944.
74. Combined mRNA microarray and proteomic analysis of eutopic endometrium of women with and without endometriosis / A. Fassbender [et al.] // *Hum Reprod.* – 2012. – Vol. 27, № 7. – P. 2020-2029.
75. Combined surgical and hormone therapy for endometriosis is the most effective treatment: prospective, randomized, controlled trial / I. Alkatout [et al.] // *J Minim Invasive Gynecol.* – 2013. Vol. 20, №4. – P. 473-481.

76. Common Dysregulated Genes in Endometriosis and Malignancies / D.B. Dentillo [et al.] // *Rev Bras Ginecol Obstet.* – 2016. – Vol. 38, №5. – P. 253-562.
77. Common variants in the CYP2C19 gene are associated with susceptibility to endometriosis / J.N. Painter [et al.] // *Fertil Steril.* – 2014. – Vol. 102, №2. – P. 496-502.
78. Conditional knock-out reveals that zygotic vezatin-null mouse embryos die at implantation / V. Hyenne [et al.] // *Mech Dev.* – 2007. – Vol. 124, №6. – P. 449-462.
79. Coordination of AUF1 and miR-148a destabilizes DNA methyltransferase 1 mRNA under hypoxia in endometriosis / K.Y. Hsiao [et al.] // *Mol Hum Reprod.* – 2015. – Vol. 21, №12. – P. 894-904.
80. Crosstalk and DC-SCRIPT: expanding nuclear receptor modulation / M.Ansems [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2010. – Vol. 1806, №2. – P. 193-199.
81. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate response element-binding protein and CCAAT/enhancer-binding protein mediate prostaglandin E2-induced steroidogenic acute regulatory protein expression in endometriotic stromal cells / C.C. Hsu [et al.] // *Am J Pathol.* – 2008. – Vol. 173, №2. – P. 433-441.
82. Cyclooxygenase-2 overexpression in ovarian endometriomas is associated with higher risk of recurrence / L. Yuan [et al.] // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol. 91, 4 Suppl. – P. 1303-1306.
83. Cyclooxygenase-2 regulates survival, migration, and invasion of human endometriotic cells through multiple mechanisms / S.K. Banu [et al.] // *Endocrinology.* – 2008. – Vol. 149, №3. – P. 1180-1189.
84. CYP19 gene variant confers susceptibility to endometriosis-associated infertility in Chinese women / L. Wang [et al.] // *Exp Mol Med.* – 2014. – Vol. 46. - Article ID e103.
85. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade / P. Li [et al.] // *Cell.* – 1997. – Vol. 91, №4. – P. 479-489.
86. DC-SCRIPT: nuclear receptor modulation and prognostic significance in primary breast cancer / M. Ansems [et al.] // *J Natl Cancer Inst.* – 2010. – Vol. 102, №1. – P. 54-68.

87. Deep Quantitative Proteomics Reveals Extensive Metabolic Reprogramming and Cancer-Like Changes of Ectopic Endometriotic Stromal Cells / S. Kasvandik [et al.] // *J Proteome Res.* – 2016. – Vol. 15, №2. – P. 572-584.
88. Deficiencies in Chfr and Mlh1 synergistically enhance tumor susceptibility in mice / Z. Fu [et al.] // *J Clin Invest.* – 2009. – Vol. 119, №9. – P. 2714-2724.
89. Determinant factors of postoperative recurrence of endometriosis: difference between endometrioma and pain / Tobiume T. [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2016. – Vol. 205. – P. 54-59.
90. Determinants of long-term clinically detected recurrence rates of deep, ovarian, and pelvic endometriosis / M. Busacca [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2006. – Vol. 195, №2. – P. 426-432.
91. Determinants of short term recurrence rate of endometriosis / F. Parazzini [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2005. – Vol. 121, №2. – P. 216-219.
92. Dienogest, a new conservative strategy for extragenital endometriosis: a pilot study / M. Harada [et al.] // *Gynecol Endocrinol.* – 2011. – Vol. 27, №9. – P. 717-720.
93. Dienogest. A possible conservative approach in bladder endometriosis. Results of a pilot study / S. Angioni [et al.] // *Gynecol Endocrinol.* – 2015. – Vol. 31, №5. – P. 406-408.
94. Dienogest increases the progesterone receptor isoform B/A ratio in patients with ovarian endometriosis / A. Hayashi [et al.] // *J Ovarian Res.* – 2012. – Vol. 5, №1. – P. 31.
95. Dienogest is as effective as intranasal buserelin acetate for the relief of pain symptoms associated with endometriosis--a randomized, double-blind, multicenter, controlled trial / T. Harada [et al.] // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol. 91, №3. – P. 675-681.
96. Dienogest for the treatment of deep endometriosis: case report and literature review / S. Agarwal [et al.] // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2015. – Vol. 41, №2. – P. 309-313.
97. Different Expression of Hypoxic and Angiogenic Factors in Human Endometriotic Lesions / I. Filippi [et al.] // *Reprod Sci.* – 2016. – Vol. 23, №4. – P. 492-497.

98. Differential expression of MMP-2, MMP-9 and PCNA in endometriosis and endometrial carcinoma / M.T. Weigel [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2012. – Vol. 160, №1. – P. 74-78.
99. Differentially expressed genes in eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis / J. Meola [et al.] // *Fertil Steril.* – 2010. – Vol. 93, №6. – P. 1750-1773.
100. Distinct mechanisms regulate cyclooxygenase-1 and -2 in peritoneal macrophages of women with and without endometriosis / M.H. Wu [et al.] // *Mol Hum Reprod.* – 2002. – Vol. 8, №12. – P. 1103-1110.
101. Distinct regulation of cyclooxygenase-2 by interleukin-1beta in normal and endometriotic stromal cells / M.H. Wu [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2005. – Vol. 90, №1. – P. 286-295.
102. DNA methylation of HOXA10 in eutopic and ectopic endometrium / K.L. Andersson [et al.] // *Hum Reprod.* – 2014. – Vol. 29, №9. – P. 1906-1911.
103. DNA methylation patterns of steroid receptor genes ESR1, ESR2 and PGR in deep endometriosis compromising the rectum / J.L. Meyer [et al.] // *Int J Mol Med.* – 2014. – Vol. 33, №4. – P. 897-904.
104. DNA polymerase  $\epsilon$  and  $\delta$  exonuclease domain mutations in endometrial cancer / D.N. Church [et al.] // *Hum Mol Genet.* – 2013. – Vol. 22, №14. – P. 2820-2828.
105. Does dienogest influence the inflammatory response of endometriotic cells? A systematic review / G. Grandi [et al.] // *Inflamm Res.* – 2016. – Vol. 65, №3. – P. 183-192.
106. Does the learning curve of conservative laparoscopic surgery in women with rectovaginal endometriosis impair the recurrence rate? / F. Carmona [et al.] // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol. 92, №3. – P. 868-675.
107. Du, H. Stem cells and female reproduction / H. Du, H.S. Taylor // *Reprod Sci.* – 2009. – Vol. 16, №2. – P. 126-139.
108. Dyson, M.T. Cutting SRC-1 down to size in endometriosis / M.T. Dyson, S.E. Bulun // *Nat Med.* – 2012. – Vol. 18, №7. – P. 1016-1018.

109. Elevated peritoneal fluid TNF- $\alpha$  incites ovarian early growth response factor 1 expression and downstream protease mediators: a correlation with ovulatory dysfunction in endometriosis / J.A. Birt [et al.] // *Reprod Sci.* – 2013. – Vol. 20, №5. – P. 514-523.
110. Endometrial alterations in endometriosis: a systematic review of putative biomarkers / K.E. May [et al.] // *Hum Reprod Update.* – 2011. – Vol. 17, № 5. – P. 637-653.
111. Endometrial stromal cells from women with endometriosis reveal peculiar migratory behavior in response to ovarian steroids / D. Gentilini [et al.] // *Fertil Steril.* – 2010. – Vol. 93, №3. – P. 706-715.
112. Endometrial vezatin and its association with endometriosis risk / S.J. Holdsworth-Carson [et al.] // *Hum Reprod.* – 2016. – Vol. 31, №5. – P. 999-1013.
113. Endometriosis: absence of recurrence in patients after endometrial ablation / C. Bulletti [et al.] // *Hum Reprod.* – 2001. – Vol. 16, №12. – P. 2676-2679.
114. Endometriosis and infertility: a multi-cytokine imbalance versus ovulation, fertilization and early embryo development / S. Vassiliadis [et al.] // *Clin Dev Immunol.* – 2005. – Vol. 12, №2. – P.125-129.
115. Endometriosis arising during estrogen and testosterone treatment 17 years after abdominal hysterectomy: a case report / A.G. Goumenou [et al.] // *Maturitas.* – 2003. – Vol. 46, №3. – P. 239-241.
116. Endometriosis as a prognostic factor for cancer survival / A. Melin [et al.] // *Int J Cancer.* – 2011. – Vol. 129, №4. – P. 948-955.
117. Endometriosis expresses a molecular pattern consistent with decreased retinoid uptake, metabolism and action / M.E. Pavone [et al.] // *Hum Reprod.* – 2011. – Vol. 26, №8. – P. 2157-2164.
118. Endometriosis: pathogenesis and treatment / P. Vercellini [et al.] // *Nat Rev Endocrinol.* – 2014. – Vol. 10, №5. – P. 261-275.
119. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease / J. Kitawaki [et al.] // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2002. – Vol. 83, № 1-5. – P. 149-55.

120. Endometrium from women with endometriosis shows increased proliferation activity / J.S. Park [et al.] // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol. 92, №4. – P. 1246-1249.
121. ER $\beta$ - and prostaglandin E<sub>2</sub>-regulated pathways integrate cell proliferation via Ras-like and estrogen-regulated growth inhibitor in endometriosis / D. Monsivais [et al.] // *Mol Endocrinol.* – 2014. – Vol. 28, №8. – P. 1304-1315.
122. Estrogen receptor gene polymorphisms are associated with recurrence of endometriosis / S. Luisi [et al.] // *Fertil Steril.* – 2006. – Vol. 85, №3. – P. 764-766.
123. Evaluation of the Ki-67 Proliferation Index and Urocortin Expression in Women with Ovarian Endometriomas / S.E. Yalcin [et al.] // *Eurasian J Med.* – 2017. – Vol. 49, №2. – P. 107-112.
124. Evidence Based Medicine: Pandora's Box of Medical and Surgical Treatment of Endometriosis / P.R. Koninckx [et al.] // *J Minim Invasive Gynecol.* – 2017. – Article ID pii: S1553-4650(17)31287-6.
125. Exome sequencing of serous endometrial tumors identifies recurrent somatic mutations in chromatin-remodeling and ubiquitin ligase complex genes / M. Le Gallo [et al.] // *Nat Genet.* – 2012. – Vol. 44, №12. – P. 1310-1315.
126. Expression and significance of ER $\beta$  and TrkB in endometriosis / X. Yu [et al.] // *Clin Exp Obstet Gynecol.* – 2016. – Vol. 43, №1. – P. 75-81.
127. Expression of adhesion, attachment and invasion markers in eutopic and ectopic endometrium: a link to the aetiology of endometriosis / J. Sundqvist [et al.] // *Hum Reprod.* – 2012. – Vol. 27, №9. – P. 2737-2746.
128. Expression of steroidogenic factor 1 (SF-1) and steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in endometriosis is associated with endometriosis severity / Y. Tian [et al.] // *J Int Med Res.* – 2009. – Vol. 37, №5. – P. 1389-1395.
129. Expression of the fibrinolytic components in endometriosis / J. Gilabert-Estelles [et al.] // *Pathophysiol Haemost Thromb.* – 2006. – Vol. 35, № 1-2. – P. 136-140.
130. Ferrara, N. VEGF-A: a critical regulator of blood vessel growth / N. Ferrara // *Eur Cytokine Netw.* – 2009. – Vol. 20, №4. – P.158-163.

131. Fuxe, J. TGF- $\beta$ -induced epithelial-mesenchymal transition: a link between cancer and inflammation / J. Fuxe, M.C. Karlsson // *Semin Cancer Biol.* – 2012. – Vol. 22, №5-6. – P. 455-461.
132. Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis / R.O. Burney [et al.] // *Endocrinology.* – 2007. – Vol. 148, №8. – P. 3814-3826.
133. Genetic variants underlying risk of endometriosis: insights from meta-analysis of eight genome-wide association and replication datasets / N. Rahmioglu [et al.] // *Hum Reprod Update.* – 2014. – Vol. 20, № 5. – P. 702-716.
134. Genome-wide association meta-analysis identifies new endometriosis risk loci / D.R. Nyholt [et al.] // *Nat Genet.* – 2012. – Vol. 44, №12. – P. 1355-1359.
135. Genome-wide association study link novel loci to endometriosis / H.M. Albertsen [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – Article ID e58257.
136. Genome-wide DNA methylation analysis predicts an epigenetic switch for GATA factor expression in endometriosis / M.T. Dyson [et al.] // *PLoS Genet.* – 2014. – Vol. 10, №3. – Article ID e1004158.
137. Genome-wide DNA methylation profiling in cultured eutopic and ectopic endometrial stromal cells / Y. Yamagata [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, №1. – Article ID e83612.
138. Genome-wide expressions in autologous eutopic and ectopic endometrium of fertile women with endometriosis / M.A. Khan [et al.] // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2012. – Vol. 10, №84.
139. Genome-wide profiling of long noncoding ribonucleic acid expression patterns in ovarian endometriosis by microarray / P.R. Sun [et al.] // *Fertil Steril.* – 2014. – Vol. 101, №4. – P. 1038-1046.
140. Giudice, L.C. Clinical practice. Endometriosis / L.C. Giudice // *N Engl J Med.* – 2010. – Vol.362, №25. – P.2389-2398.
141. Global gene analysis of late secretory phase, eutopic endometrium does not provide the basis for a minimally invasive test of endometriosis / J.R. Sherwin [et al.] // *Hum Reprod.* – 2008. – Vol. 23, №5. – P.1063-1068.



142. Glycogen synthase kinase 3 $\beta$  sustains invasion of glioblastoma via the focal adhesion kinase, Rac1, and c-Jun N-terminal kinase-mediated pathway / Y. Chikano [et al.] // *Mol Cancer Ther.* – 2015. – Vol. 14, №2. – P. 564-574.
143. GnRH agonists induce endometrial epithelial cell apoptosis via GRP78 down-regulation / H. Weng [et al.] // *J Transl Med.* – 2014. – Vol. 4, №12. – P. 306.
144. Gonadotrophin-releasing hormone analogues for pain associated with endometriosis / A. Prentice [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2000. – Vol.2. – Article ID CD000346.
145. Guo, S.W. Nuclear factor-kappaB (NF-kappaB): an unsuspected major culprit in the pathogenesis of endometriosis that is still at large? / S.W. Guo // *Gynecol Obstet Invest.* – 2007. – Vol. 63, №2. – P. 71-97.
146. Guo, S.W. Recurrence of endometriosis and its control / S.W. Guo // *Hum Reprod Update.* – 2009. – Vol. 15, №4. – P. 441-461.
147. Haagenson, K.K. The role of MAP kinases and MAP kinase phosphatase-1 in resistance to breast cancer treatment / K.K. Haagenson, G.S. Wu // *Cancer Metastasis Rev.* – 2010. – Vol. 29, №1. – P. 143-149.
148. Harada H., Quearry B., Ruiz-Vela A., Korsmeyer S.J. Survival factor-induced extracellular signal-regulated kinase phosphorylates BIM, inhibiting its association with BAX and proapoptotic activity. // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2004. – Vol. 101, №43. – P. 15313-15317.
149. Healy, S. Immediate early response genes and cell transformation / S. Healy, P. Khan, J.R. Davie // *Pharmacol Ther.* – 2013. – Vol. 137, №1. – P. 64-77.
150. Heldin, C.H. Regulation of EMT by TGF $\beta$  in cancer / C.H. Heldin, M. Vanlandewijck, A. Moustakas // *FEBS Lett.* – 2012. – Vol. 586, №14. – P. 1959-1970.
151. Hennessy, B.A. 17beta-Estradiol rapidly stimulates c-fos expression via the MAPK pathway in T84 cells / B.A. Hennessy, B.J. Harvey, V. Healy // *Mol Cell Endocrinol.* – 2005. – Vol. 229, №1-2. – P. 39-47.
152. High prevalence of endometrial polyps in endometriosis-associated infertility / L. Shen [et al.] // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 95, №8. – P. 2722-2724.

153. High rate of endometriosis recurrence in young women / I. Tandoi [et al.] // *J Pediatr Adolesc Gynecol.* – 2011. – Vol. 24, №6. – P. 376-379.
154. Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenetic link / E. Cicinelli [et al.] // *Fertil Steril.* – 2017. – Vol. 108, №2. – P. 289-295.
155. Histopathologic analysis of intestinal endometriosis after laparoscopic low anterior resection / M. Jinushi [et al.] // *J Minim Invasive Gynecol.* – 2011. – Vol. 18, №1. – P. 48-53.
156. Hormonal Add-Back Therapy for Females Treated With Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist for Endometriosis: A Randomized Controlled Trial / A.D. DiVasta [et al.] // *Obstet Gynecol.* – 2015. – Vol. 126, №3. – P. 617-627.
157. Hormonal therapy deregulates prostaglandin-endoperoxidase synthase 2 (PTGS2) expression in endometriotic tissues / P. Santulli [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2014. – Vol. 99, №3. – P. 881-890.
158. HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis / H.S. Taylor [et al.] // *Hum Reprod.* – 1999. – Vol. 14, №5. – P. 1328-1331.
159. HOXA11 is critical for development and maintenance of uterosacral ligaments and deficient in pelvic prolapsed / K.A. Connell [et al.] // *J Clin Invest.* – 2008. – Vol. 118, №3. – P. 1050-1055.
160. HOXA-11 mediated dysregulation of matrix remodeling during implantation window in women with endometriosis / S.K. Jana [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* – 2013. – Vol. 30, №11. – P. 1505-1512.
161. Hu, W.P. Endometriosis-specific genes identified by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction expression profiling of endometriosis versus autologous uterine endometrium / W.P. Hu, S.K. Tay, Y. Zhao // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2006. – Vol. 91, №1. – P. 228-238.
162. Hypermethylation of the CpG island spanning from exon II to intron III is associated with steroidogenic factor 1 expression in stromal cells of endometriosis / Q. Xue [et al.] // *Reprod Sci.* – 2011. – Vol. 18, №11. – P. 1080-1084.

163. Hypoxia-induced microRNA-20a expression increases ERK phosphorylation and angiogenic gene expression in endometriotic stromal cells / S.C. Lin [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2012. – Vol. 97, №8. – P. 1515-1523.
164. Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ -induced epithelial-mesenchymal transition of endometrial epithelial cells may contribute to the development of endometriosis / Y. Xiong [et al.] // *Hum Reprod.* – 2016. – Vol. 31, №6. – P. 1327-1338.
165. Hypoxia-inhibited dual-specificity phosphatase-2 expression in endometriotic cells regulates cyclooxygenase-2 expression / M.H. Wu [et al.] // *J Pathol.* – 2011. – Vol. 225, №3. – P.390-400.
166. Hypoxia Promotes Invasion of Endometrial Stromal Cells via Hypoxia-Inducible Factor 1 $\alpha$  Upregulation-Mediated  $\beta$ -Catenin Activation in Endometriosis / W. Xiong [et al.] // *Reprod Sci.* – 2016. – Vol. 23, №4. – P. 531-541.
167. Hypoxia responsive miR-210 promotes cell survival and autophagy of endometriotic cells in hypoxia / T.X. Xu [et al.] // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2016. – Vol. 20, №3. – P. 399-406.
168. Identification of global transcriptome abnormalities and potential biomarkers in eutopic endometria of women with endometriosis: A preliminary study / L. Zhao [et al.] // *Biomed Rep.* – 2017. – Vol. 6, №6. – P. 654-662.
169. Identification of susceptibility genes for peritoneal, ovarian, and deep infiltrating endometriosis using a pooled sample-based genome-wide association study / B. Borghese [et al.] // *Biomed Res Int.* – 2015. – Vol. 2015. – Article ID 461024.
170. Immunohistochemical analysis of the role of angiogenic status in the vasculature of peritoneal endometriosis / S. Matsuzaki [et al.] // *Fertil Steril.* – 2001. – Vol. 76, №4. – P. 712-716.
171. Immunohistochemical expression pattern of metastasis suppressors KAI1 and KISS1 in endometriosis and normal endometrium / A. Timologou [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2016. – Vol. 199. – P. 110-115.
172. Immunoreactivity of progesterone receptor isoform B and nuclear factor kappa-B as biomarkers for recurrence of ovarian endometriomas / F. Shen [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2008. – Vol. 199, №5. – Article ID 486.e1-486.e10.

173. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries / K.E. Nnoaham [et al.] // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 96, №2. – P. 366-373.
174. Increased activation of the PI3K/AKT pathway compromises decidualization of stromal cells from endometriosis / X. Yin [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2012. – Vol. 97, №1. – P. 35-43.
175. Increased cyclooxygenase-2 expression is associated with better clinical outcome in patients submitted to complete ablation for severe endometriosis / F. Fanfani [et al.] // *Hum Reprod.* – 2005. – Vol. 20, №10. – P. 2964-2968.
176. Increased expression of antimüllerian hormone and its receptor in endometriosis / P. Carrarelli [et al.] // *Fertil Steril.* – 2014. – Vol. 101, №5. – P. 1353-1358.
177. Increased expression of cyclooxygenase-2 in local lesions of endometriosis patients / F. Chishima [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2002. – Vol. 48, №1. – P. 50-56.
178. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 in the eutopic endometrial tissue of women with endometriosis / T. Collette [et al.] // *Hum Reprod.* – 2006. – Vol. 21, №12. – P. 3059-3067.
179. Independent Replication and Meta-Analysis for Endometriosis Risk Loci / Y. Sapkota [et al.] // *Twin Res Hum Genet.* – 2015. – Vol. 18, №5. – P. 518-525.
180. Induction of endometriotic nodules in an experimental baboon model mimicking human deep nodular lesions / O. Donnez [et al.] // *Fertil Steril.* – 2013. – Vol. 99, №3. – P. 783-789.
181. Interleukin-1beta elevates cyclooxygenase-2 protein level and enzyme activity via increasing its mRNA stability in human endometrial stromal cells: an effect mediated by extracellularly regulated kinases 1 and 2. / M. Tamura [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2002. – Vol. 87, №7. – P. 3263-3273.
182. Interleukin-19 and interleukin-22 serum levels are decreased in patients with ovarian endometrioma / P. Santulli [et al.] // *Fertil Steril.* – 2013. – Vol. 99, №1. – P. 219-226.

183. Involvement of pelvic inflammation-related mismatch repair abnormalities and microsatellite instability in the malignant transformation of ovarian endometriosis / C. Fuseya [et al.] // *Hum Pathol.* – 2012. – Vol. 43, №11. – P. 1964-1972.
184. Involvement of resistance to apoptosis in the pathogenesis of endometriosis / K. Nasu [et al.] // *Histol Histopathol.* – 2009. – Vol. 24, №9. – P. 1181-1192.
185. Is the baboon model appropriate for endometriosis studies? / J.P. Dehoux [et al.] // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 96, №3. – P. 728-733.
186. Jakowlew, S.B. Transforming growth factor-beta in cancer and metastasis / S.B. Jakowlew // *Cancer Metastasis Rev.* – 2006. – Vol. 25, №3. – P. 435-457.
187. Jiang, Q.Y. Growth mechanisms of endometriotic cells in implanted places: a review / Q.Y. Jiang, R.J. Wu // *Gynecol Endocrinol.* – 2012. – Vol. 28, №7. – P. 562-567.
188. Johnson, N.P. Consensus on current management of endometriosis / N.P. Johnson, L. Hummelshoj // *Hum Reprod.* – 2013. – Vol. 28, №6. – P. 1552-1568.
189. Jones, R.K. Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis / R.K. Jones, R.F. Searle, J.N. Bulmer // *Hum Reprod.* – 1998. – Vol. 13, №12. – P. 3496-3502.
190. Kalluri, R. The basics of epithelial-mesenchymal transition / R. Kalluri, R.A. Weinberg // *J Clin Invest.* – 2009. – Vol. 119, №6. – P. 1420-1428.
191. Kaminska, B. MAPK signalling pathways as molecular targets for anti-inflammatory therapy--from molecular mechanisms to therapeutic benefits / B. Kaminska // *Biochim Biophys Acta.* – 2005. – Vol. 1754, № 1-2. – P. 253-262.
192. Kato, K. Stem cells in human normal endometrium and endometrial cancer cells: characterization of side population cells / K. Kato // *Kaohsiung J Med Sci.* – 2012. – Vol. 28, №2. – P. 63-71.
193. Kirkland, J.L. Progesterone inhibits the estrogen-induced expression of c-fos messenger ribonucleic acid in the uterus / J.L. Kirkland, L. Murthy, G.M. Stancel // *Endocrinology.* – 1992. – Vol. 130, №6. – P. 3223-3230.

194. Kitaya, K. Immunohistochemical and clinicopathological characterization of chronic endometritis / K. Kitaya, T. Yasuo // *Am J Reprod Immunol.* – 2011. – Vol. 66, №5. – P. 410-415.
195. Knockdown of Hoxa11 in vivo in the uterosacral ligament and uterus of mice results in altered collagen and matrix metalloproteinase activity / Y. Ma [et al.] // *Biol Reprod.* – 2012. – Vol. 86, №4. – P. 100.
196. Kobayashi, H. Towards an understanding of the molecular mechanism of endometriosis: unbalancing epithelial-stromal genetic conflict / H. Kobayashi, C. Uekuri, H. Shigetomi // *Gynecol Endocrinol.* – 2014. – Vol. 30, №1. – P. 7-15.
197. Kokcu, A. Relationship between endometriosis and cancer from current perspective / A. Kokcu // *Arch Gynecol Obstet.* – 2011. – Vol. 284, №6. – P. 1473-1479.
198. Laschke, M.W. Anti-angiogenic treatment strategies for the therapy of endometriosis / M.W. Laschke, M.D. Menger // *Hum Reprod Update.* – 2012. – Vol. 18, №6. – P. 682-702.
199. Laschke, M.W. Vasculogenesis: a new piece of the endometriosis puzzle / M.W. Laschke, C. Giebels, M.D. Menger // *Hum Reprod Update.* – 2011. – Vol. 17, №5. – P. 628-636.
200. Lebovic, D.I. Immunobiology of endometriosis / D.I. Lebovic, M.D. Mueller, R.N. Taylor // *Fertil Steril.* – 2001. – Vol. 75, №1. – P. 1-10.
201. Lee, B. Experimental murine endometriosis induces DNA methylation and altered gene expression in eutopic endometrium / B. Lee, H. Du, H.S. Taylor // *Biol Reprod.* – 2009. – Vol. 80, №1. – P. 79-85.
202. Lesion kinetics in a non-human primate model of endometriosis / P. Harirchian [et al.] // *Hum Reprod.* – 2012. – Vol. 27, №8. – P. 2341-2351.
203. Long-term cyclic and continuous oral contraceptive therapy and endometrioma recurrence: a randomized controlled trial / R. Seracchioli [et al.] // *Fertil Steril.* – 2010. – Vol. 93, №1. – P. 52-56.
204. Long-term follow-up after conservative surgery for bladder endometriosis / L. Fedele [et al.] // *Fertil Steril.* – 2005. – Vol. 83, №6. – P. 1729-1733.

205. Long-term follow-up and recurrence rate after mesorectum-sparing bowel resection among women with rectovaginal endometriosis / M. Mangler [et al.] // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2014. – Vol. 125, №3. – P. 266-269.
206. Long-term use of dienogest for the treatment of endometriosis / M. Momoeda [et al.] // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2009. – Vol. 35, №6. – P. 1069-1076.
207. Loss of ZFP36 expression in colorectal cancer correlates to wnt/  $\beta$ -catenin activity and enhances epithelial-to-mesenchymal transition through upregulation of ZEB1, SOX9 and MACC1 / L. Montorsi [et al.] // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7, №37. – P. 59144-59157.
208. Low-dose add-back therapy during postoperative GnRH agonist treatment / H.W. Tsai [et al.] // *Taiwan J Obstet Gynecol.* – 2016. – Vol. 55, №1. – P. 55-59.
209. Low-dose oral contraceptive pill for dysmenorrhea associated with endometriosis: a placebo-controlled, double-blind, randomized trial / T. Harada [et al.] // *Fertil Steril.* – 2008. – Vol. 90, №5. – P. 1583-1588.
210. Lymphocytes in endometriosis / Y. Osuga [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2011. – Vol. 65, №1. – P. 1-10.
211. MAP kinases and the inflammatory signaling cascade as targets for the treatment of endometriosis? / P. Santulli [et al.] // *Expert Opin Ther Targets.* – 2015. – Vol. 19, №11. – P. 1465-1483.
212. Maruyama, T. Stem cell theory for the pathogenesis of endometriosis / T. Maruyama, Y. Yoshimura // *Front Biosci (Elite Ed).* – 2012. – Vol. 1, №4. – P.2754-2763.
213. Matsuzaki, S. Analysis of matrix metalloproteinase-7 expression in eutopic and ectopic endometrium samples from patients with different forms of endometriosis / S. Matsuzaki, E. Maleysson, C. Darcha // *Hum Reprod.* – 2010. – Vol. 25, №3. – P. 742-750.
214. Menakaya, U. Consensus on current management of endometriosis / U. Menakaya, F. Infante, G. Condous // *Hum Reprod.* – 2013. – Vol. 28, №11. – P. 3162-3163.

215. Methylation of a novel CpG island of intron 1 is associated with steroidogenic factor 1 expression in endometriotic stromal cells / Q. Xue [et al.] // *Reprod Sci.* – 2014. – Vol. 21, №3. – P. 395-400.
216. Mismatch repair system in endometriotic tissue and eutopic endometrium of unaffected women / T. Grassi [et al.] // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2015. – Vol. 8, №2. – P. 1867-1877.
217. Mitogen activated protein kinases: a role in inflammatory bowel disease? / O.J. Broom [et al.] // *Clin Exp Immunol.* – 2009. – Vol. 158, №3. – P. 272-280.
218. MKP1 repression is required for the chemosensitizing effects of NF-kappaB and PI3K inhibitors to cisplatin in non-small cell lung cancer / M. Cortes-Sempere [et al.] // *Cancer Lett.* – 2009. – Vol. 286, №2. – P. 206-216.
219. Moini, A. Risk factors for recurrence rate of ovarian endometriomas following a laparoscopic cystectomy / A. Moini, A. Arabipoor, N. Ashrafinia // *Minerva Med.* – 2014. – Vol. 105, №4. – P. 295-301.
220. Molecular biology of endometriosis: from aromatase to genomic abnormalities / S.E. Bulun [et al.] // *Semin Reprod Med.* – 2015. – Vol. 33, №3. – P. 220-224.
221. Molecular classification of endometriosis and disease stage using high-dimensional genomic data / J.S. Tamareis [et al.] // *Endocrinology.* – 2014. – Vol. 155, №12. – P. 4986-4999.
222. Molecular mechanisms underlying endometriosis pathogenesis revealed by bioinformatics analysis of microarray data / S. Ping [et al.] // *Arch Gynecol Obstet.* – 2016. – Vol. 293, №4. – P. 797-804.
223. Molecular pathogenesis of endometriosis-associated clear cell carcinoma of the ovary (review) / H. Kobayashi [et al.] // *Oncol Rep.* – 2009. – Vol. 22, №2. – P. 233-240.
224. Morphometric study of the stromal vascularization in peritoneal endometriosis / M. Nisolle [et al.] // *Fertil Steril.* – 1993. – Vol. 59, №3. – P. 681-684.
225. Moustakas, A. Induction of epithelial-mesenchymal transition by transforming growth factor  $\beta$  / A. Moustakas, C.H. Heldin // *Semin Cancer Biol.* – 2012. – Vol. 22, № 5-6ю – P. 446-454.



226. Multiple synchronous primary gynecologic malignancies in an MSH2 mutation carrier with endometriosis / M. Shoni [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2013. – Vol. 31, №3. – P. 33-36.
227. Mutations in the PTEN tumor gene and risk of endometriosis: a case-control study / S. Govatati [et al.] // *Hum Reprod.* – 2014. – Vol. 29, №2. – P. 324-336.
228. Myeloid ecotropic viral integration site 1 (MEIS) 1 involvement in embryonic implantation / B. Xu [et al.] // *Hum Reprod.* – 2008. – Vol. 23, №6. – P. 1394-1406.
229. N2O strongly prevents adhesion formation and postoperative pain in open surgery through a drug-like effect / R. Corona [et al.] // *Gynecol Surg.* – 2017. – Vol. 14, №1. – P. 21.
230. Ota, H. Expression of major histocompatibility complex class II antigen in endometriotic tissue in patients with endometriosis and adenomyosis / H. Ota, S. Igarashi // *Fertil Steril.* – 1993. – Vol. 60, №5. – P. 834-838.
231. Oxidative stress biomarkers in patients with endometriosis: systematic review / L.F. Carvalho [et al.] // *Arch Gynecol Obstet.* – 2012. – Vol. 286, №4. – P. 1033-1040.
232. Pathogenesis of ascites tumor growth: vascular permeability factor, vascular hyperpermeability, and ascites fluid accumulation / J.A. Nagy [et al.] // *Cancer Res.* – 1995. – Vol. 55, №2. – P. 360-368.
233. Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress / A. Augoulea [et al.] // *Arch Gynecol Obstet.* – 2012. – Vol. 286, №1. – P. 99-103.
234. Pathological functions of hypoxia in endometriosis / K.Y. Hsiao [et al.] // *Front Biosci (Elite Ed).* – 2015. – Vol. 7. – P. 309-321.
235. Pathophysiology and Immune Dysfunction in Endometriosis / S.H. Ahn [et al.] // *Biomed Res Int.* – 2015. – Article ID 795976. doi: 10.1155/2015/795976.
236. Patterns of and factors potentially influencing the age at first surgery for women with ovarian endometriomas / X. Liu [et al.] // *Gynecol Obstet Invest.* – 2008. – Vol. 66, №2. – P. 76-83.
237. Patterns of and risk factors for recurrence in women with ovarian endometriomas / X. Liu [et al.] // *Obstet Gynecol.* – 2007. – Vol. 109, №6. – P. 1411-1420.

238. Pavone, M.E. Aromatase inhibitors for the treatment of endometriosis / M.E. Pavone, S.E. Bulun // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 98, №6. – P. 1370-1379.
239. Phosphoproteomics Analysis of Endometrium in Women with or without Endometriosis / H.M. Xu [et al.] // *Chin Med J (Engl).* – 2015. – Vol. 128, №19. – P. 2617-2624.
240. Phosphorylation of Bim-EL by Erk1/2 on serine 69 promotes its degradation via the proteasome pathway and regulates its proapoptotic function / F. Luciano [et al.] // *Oncogene.* – 2003. – Vol. 22, №43. – P. 6785-6793.
241. Post-operative endometriosis recurrence: a plea for prevention based on pathogenetic, epidemiological and clinical evidence / P. Vercellini [et al.] // *Reprod Biomed Online.* – 2010. – Vol. 21, №2. – P. 259-265.
242. Postoperative medical therapy after surgical treatment of endometriosis: from adjuvant therapy to tertiary prevention / E. Somigliana [et al.] // *J Minim Invasive Gynecol.* – 2014. – Vol. 21, №3. – P. 328-334.
243. Postoperative oral contraceptive exposure and risk of endometrioma recurrence / P. Vercellini [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2008. – Vol. 198, №5. – Article ID 504.e1-5.
244. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility: a committee opinion / Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 98, №3. – P. 591-598.
245. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Treatment of pelvic pain associated with endometriosis: a committee opinion / Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine // *Fertil Steril.* – 2014. – Vol. 101, №4. – P. 927-935.
246. Preoperative pain and recurrence risk in patients with peritoneal endometriosis / S.P. Renner [et al.] // *Gynecol Endocrinol.* – 2010. – Vol. 26, №3. – P. 230-235.
247. Prevention of the recurrence of symptom and lesions after conservative surgery for endometriosis / K. Koga [et al.] // *Fertil Steril.* – 2015. – Vol. 104, №4. – P. 793-801.

248. Profiling of selected angiogenesis-related genes in proliferative eutopic endometrium of women with endometriosis / P. Laudanski [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2014. – №172. – P. 85-92.
249. Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis / G.R. Attia [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2000. – Vol. 85, №8. – P. 2897-2902.
250. Prostaglandin E2 via steroidogenic factor-1 coordinately regulates transcription of steroidogenic genes necessary for estrogen synthesis in endometriosis / E. Attar [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2009. – Vol. 94, №2. – P. 623-631.
251. Proteomic characterization of midproliferative and midsecretory human endometrium / J.I. Chen [et al.] // *J Proteome Res.* – 2009. – Vol. 8, №4. – P. 2032-2044.
252. Recommendations for the surgical treatment of endometriosis-part 1: ovarian endometrioma / Working group of ESGE, ESHRE, and WES // *Gynecol Surg.* – 2017. – Vol. 14, №1. – P. 27.
253. Recurrence of endometriomas after laparoscopic removal: sonographic and clinical follow-up and indication for second surgery / C. Exacoustos [et al.] // *J Minim Invasive Gynecol.* – 2006. – Vol. 13, №4. – P. 281-288.
254. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision / K. Koga [et al.] // *Hum Reprod.* – 2006. – Vol. 21, №8. – P. 2171-2174.
255. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision: risk factors and prevention / N. Ouchi [et al.] // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2014. – Vol. 40, №1. – P. 230-236.
256. Recurrence of ovarian endometriosis and anatomical location of the primary lesion / F. Ghezzi [et al.] // *Fertil Steril.* – 2001. – Vol. 75, №1. – P. 136-140.
257. Recurrence rate of endometriomas following a laparoscopic cystectomy / I. Kikuchi [et al.] // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2006. – Vol. 85, №9. – P. 1120-1124.
258. Regulation of aromatase P450 expression in endometriotic and endometrial stromal cells by CCAAT/enhancer binding proteins (C/EBPs): decreased C/EBPbeta in endometriosis is associated with overexpression of aromatase / S. Yang [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2002. – Vol. 87, №5. – P. 2336-2345.

259. Regulation of steroidogenic acute regulatory protein expression and progesterone production in endometriotic stromal cells / S.J. Tsai [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2001. – Vol. 86, №12. – P. 5765-5773.
260. Reis, F.M. Endometriosis: hormone regulation and clinical consequences of chemotaxis and apoptosis / F.M. Reis, F. Petraglia, R.N. Taylor // *Hum Reprod Update.* – 2013. – Vol. 19, №4. – P. 406-418.
261. Replication and meta-analysis of previous genome-wide association studies confirm vezatin as the locus with the strongest evidence for association with endometriosis / L. Pagliardini [et al.] // *Hum Reprod.* – 2015. – Vol. 30, №4. – P. 987-993.
262. Reproductive performance, pain recurrence and disease relapse after conservative surgical treatment for endometriosis: the predictive value of the current classification system / P. Vercellini [et al.] // *Hum Reprod.* – 2006. – Vol. 21, №10. – P. 2679-2685.
263. Reproductive prognosis in endometriosis. A national cohort study / M.V. Hjordt Hansen [et al.] // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2014. – Vol. 93, № 5. – P. 483-489.
264. Research Priorities for Endometriosis: Recommendations From a Global Consortium of Investigators in Endometriosis / P.A. Rogers [et al.] // *Reprod Sci.* – 2017. – Vol. 24, №2. – P. 202-226.
265. Research resource: genome-wide profiling of methylated promoters in endometriosis reveals a subtelomeric location of hypermethylation / B. Borghese [et al.] // *Mol Endocrinol.* – 2010. – Vol. 24, №9. – P. 1872-1885.
266. Reya, T. Wnt signalling in stem cells and cancer / T. Reya, H. Clevers // *Nature.* – 2005. – Vol. 434, №7035. – P. 843-850.
267. RHOC: a key gene for endometriosis / J. Meola [et al.] // *Reprod Sci.* – 2013. – Vol. 20, №8. – P. 998-1002.
268. Risk factors and biomarkers for the recurrence of ovarian endometrioma: about the immunoreactivity of progesterone receptor isoform B and nuclear factor kappa B / A.R. Han [et al.] // *Gynecol Endocrinol.* – 2017. – Vol. 33, №1. – P. 70-74. doi: 10.1080/09513590.2016.1205580.

269. Risk factors for recurrence and re-recurrence of ovarian endometriomas after laparoscopic excision / S. Hayasaka [et al.] // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2011. – Vol. 37, №6. – P. 581-585.
270. Risk of endometrial polyps in women with endometriosis: a meta-analysis / Q.M. Zheng [et al.] // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2015. – Vol. 13, № 103.
271. Role of aromatase in endometrial disease / S.E. Bulun [et al.] // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2001. – Vol. 79, № 1-5. – P. 19-25.
272. Role of estrogen receptor- $\beta$  in endometriosis / S.E. Bulun [et al.] // *Semin Reprod Med.* – 2012. – Vol. 30, №1. – P. 39-45.
273. Role of MutS homolog 2 (MSH2) in intestinal myofibroblast proliferation during Crohn's disease stricture formation / M. Floer [et al.] // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2008. – Vol. 295, №3. – P.581-590.
274. Role of TGF-betas in normal human endometrium and endometriosis / C.O. Omwandho [et al.] // *Hum Reprod.* – 2010. – Vol. 25, №1. – P. 101-109.
275. Safety and tolerability of dienogest in endometriosis: pooled analysis from the European clinical study program / T. Strowitzki [et al.] // *Int J Womens Health.* – 2015. – Vol. 7. – P. 393-401.
276. Screening of a panel of steroid-related genes showed polymorphisms of aromatase genes confer susceptibility to advanced stage endometriosis in the Taiwanese Han population / C.H. Wu [et al.] // *Taiwan J Obstet Gynecol.* – 2013. – Vol. 52, №4. – P. 485-492.
277. Seidman, J.D. Prognostic importance of hyperplasia and atypia in endometriosis / J.D. Seidman // *Int J Gynecol Pathol.* – 1996. – Vol. 15, №1. – P. 1-9.
278. Serum and peritoneal interleukin-33 levels are elevated in deeply infiltrating endometriosis / P. Santulli [et al.] // *Hum Reprod.* – 2012. – Vol. 27, №7. – P. 2001-2009.
279. Shared genetics underlying epidemiological association between endometriosis and ovarian cancer / Y. Lu [et al.] // *Hum Mol Genet.* – 2015. – Vol. 24, №20. – P. 5955-5964.

280. Sitruk-Ware, R. The use of newer progestins for contraception / R. Sitruk-Ware, A. Nath // *Contraception*. – 2010. – Vol. 82, №5. – P. 410-417.
281. Sourial, S. Theories on the pathogenesis of endometriosis / S. Sourial, N. Tempest, D.K. Hapangama // *Int J Reprod Med*. – 2014. – Volume 2014, Article ID 179515, 9 pages.
282. Sphingosine pathway deregulation in endometriotic tissues / P. Santulli [et al.] // *Fertil Steril*. – 2012. – Vol. 97, №4. – P. 904-911.
283. Spontaneous apoptosis of endometrial tissue is impaired in women with endometriosis / H.M. Gebel [et al.] // *Fertil Steril*. – 1998. – Vol. 69, №6. – P. 1042-1047.
284. Spontaneous VEGF production by cultured peritoneal mesothelial cells from patients on peritoneal dialysis / R. Selgas [et al.] // *Perit Dial Int*. – 2000. – Vol. 20, №6. – P. 798-801.
285. Stem cells in endometrium and their role in the pathogenesis of endometriosis / P.G. Figueira [et al.] // *Ann N Y Acad Sci*. – 2011. – Vol. 122, №1. – P.10-17.
286. Steroidogenic factor-1 expression in ovarian endometriosis / J.C. Noël [et al.] // *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. – 2010. – Vol. 18, №3. – P. 258-261.
287. Suppression of ERalpha activity by COUP-TFII is essential for successful implantation and decidualization / D.K. Lee [et al.] // *Mol Endocrinol*. – 2010. – Vol. 24, №5. – P. 930-940.
288. Surgical therapy of ovarian endometrioma: recurrence and pregnancy rates / L.V. Maul [et al.] // *JSLS*. – 2014. – Vol. 18, №3. – Article ID pii: e2014.00223.
289. Surgical treatment of deep endometriosis and risk of recurrence / M. Vignali [et al.] // *J Minim Invasive Gynecol*. – 2005. – Vol. 12, №6. – P. 508-513.
290. Surgical treatment of deeply infiltrating endometriosis with colorectal involvement / C. Meuleman [et al.] // *Hum Reprod Update*. – 2011. – Vol. 17, №3. – P. 311-326.
291. Tailoring radicality in demolitive surgery for deeply infiltrating endometriosis / L. Fedele [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. – 2005. – Vol. 193, №1. – P. 114-117.

292. TGF- $\beta$ I Regulates Cell Migration through Pluripotent Transcription Factor OCT4 in Endometriosis / H.K. Au [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, № 12. – Article ID e0145256.
293. The assessment of immunohistochemical profile of endometriosis implants, a practical method to appreciate the aggressiveness and recurrence risk of endometriosis / E. Brătilă [et al.] // Rom J Morphol Embryol. – 2015. – Vol. 56, №4. – P. 1301-1307.
294. The association between endometriosis and chronic endometritis / A. Takebayashi [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, №2. – Article ID e88354.
295. The effect of second-line surgery on reproductive performance of women with recurrent endometriosis: a systematic review / P. Vercellini [et al.] // Acta Obstet Gynecol Scand. – 2009. – Vol. 88, №10. – P. 1074-1082.
296. The Effects of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Combined with Add-Back Therapy on Quality of Life for Adolescents with Endometriosis: A Randomized Controlled Trial / J. Sadler Gallagher [et al.] // J Pediatr Adolesc Gynecol. – 2017. – Vol. 30, №2. – P. 215-222.
297. The estrogen early response gene FOS is altered in a baboon model of endometriosis / J.M. Hastings [et al.] // Biol Reprod. – 2006. – Vol. 75, №2. – P. 176-182.
298. The expression of estrogen receptors as well as GREB1, c-MYC, and cyclin D1, estrogen-regulated genes implicated in proliferation, is increased in peritoneal endometriosis / C. Pellegrini [et al.] // Fertil Steril. – 2012. – Vol. 98, №5. – P. 1200-1208.
299. TNF $\alpha$ -induced IKK $\beta$  complex activation influences epithelial, but not stromal cell survival in endometriosis / V. Kocbek [et al.] // Mol Hum Reprod. – 2016. – Vol. 22, №11. – P. 768-777.
300. The influence of menstrual cycle and endometriosis on endometrial methylome / M. Saare [et al.] // Clin Epigenetics. – 2016. – Vol. 8, №2.
301. The mRNA-destabilizing protein tristetraprolin is suppressed in many cancers, altering tumorigenic phenotypes and patient prognosis / S.E. Brennan [et al.] // Cancer Res. – 2009. – Vol. 69, №12. – P. 5168-5176.

302. The pathogenesis of endometrial polyps: a systematic semi-quantitative review / U. Indraccolo [et al.] // *Eur J Gynaecol Oncol.* – 2013. – Vol. 34, №1. – P. 5-22.
303. The reliability of the histological diagnosis of endometritis in asymptomatic IVF cases: a multicenter observer study / J.C. Kasius [et al.] // *Hum Reprod.* – 2012. – Vol. 27, №1. – P. 153-158.
304. The role of the AP-1 transcription factors c-Fos, FosB, Fra-1 and Fra-2 in the invasion process of mammary carcinomas / K. Milde-Langosch [et al.] // *Breast Cancer Res Treat.* – 2004. – Vol. 86, №2. – P. 139-152.
305. The role of the Hoxa10/HOXA10 gene in the etiology of endometriosis and its related infertility: a review / A. Zanatta [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* – 2010. – Vol. 27, №12. – P. 701-710.
306. The steroidogenic factor-1 protein is not expressed in various forms of endometriosis but is strongly present in ovarian cortical or medullary mesenchymatous cells adjacent to endometriotic foci / J.C. Noël [et al.] // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 95, №8. – P. 2655-2657.
307. The WNT/ $\beta$ -catenin signaling pathway and expression of survival promoting genes in luteinized granulosa cells: endometriosis as a paradigm for a dysregulated apoptosis pathway / A.M. Sanchez [et al.] // *Fertil Steril.* – 2014. – Vol. 101, №6. – P. 1688-1696.
308. Transactivation of steroidogenic acute regulatory protein in human endometriotic stromal cells is mediated by the prostaglandin EP2 receptor / H.S. Sun [et al.] // *Endocrinology.* – 2003. – Vol. 144, №9. – P. 3934-3942.
309. Tulchinsky, E. Fos family members: regulation, structure and role in oncogenic transformation / E. Tulchinsky // *Histol Histopathol.* – 2000. – Vol. 15, №3. – P. 921-928.
310. Tumor necrosis factor-alpha but not interleukin-1 beta or interleukin-8 concentrations correlate with angiogenic activity of peritoneal fluid from patients with minimal to mild endometriosis / J.W. Maas [et al.] // *Fertil Steril.* – 2001. – Vol. 75, №1. – P. 180-185.



311. Tuttlies, F. [ENZIAN-score, a classification of deep infiltrating endometriosis] / F. Tuttlies // *Zentralbl Gynakol.* – 2005. – Vol. 127, №5. – P.275-281.
312. Unique transcriptome, pathways, and networks in the human endometrial fibroblast response to progesterone in endometriosis / L. Aghajanova [et al.] // *Biol Reprod.* – 2011. – Vol. 84, №4. – P. 801-815.
313. Up-regulation of Bcl-2 by CD147 Through ERK Activation Results in Abnormal Cell Survival in Human Endometriosis / C. Wang [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2015. – Vol. 100, №7. – P. 955-963.
314. Vascular development in endometriosis / P.G. Groothuis [et al.] // *Angiogenesis.* – 2005. – Vol.8, №2. – P.147-156.
315. Vascular endothelial growth factor C is increased in endometrium and promotes endothelial functions, vascular permeability and angiogenesis and growth of endometriosis / H. Xu [et al.] // *Angiogenesis.* – 2013. – Vol. 16, №3. – P. 541-551.
316. Vascular endothelial growth factor expression in human endometrium is regulated by hypoxia / A.M. Sharkey [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2000. – Vol. 85, №1. – P. 402-409.
317. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms contribute to the risk of endometriosis: an updated systematic review and meta-analysis of 14 case-control studies / Y.Z. Li [et al.] // *Genet Mol Res.* – 2013. – Vol. 12, №2. – P. 1035-1044.
318. Vezatin, a novel transmembrane protein, bridges myosin VIIA to the cadherin-catenins complex / P. Küssel-Andermann [et al.] // *EMBO J.* – 2000. – Vol. 19, №22. – P. 6020-6029.
319. VEZT, a novel putative tumor suppressor, suppresses the growth and tumorigenicity of gastric cancer / R. Miao [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, №9. – Article ID e74409.
320. Whole-exome sequencing of endometriosis identifies frequent alterations in genes involved in cell adhesion and chromatin-remodeling complexes / X. Li [et al.] // *Hum Mol Genet.* – 2014. – Vol. 23, №22. – P. 6008-6021.

321. Whole genome deoxyribonucleic acid microarray analysis of gene expression in ectopic versus eutopic endometrium / K.M. Eyster [et al.] // *Fertil Steril.* – 2007. – Vol. 88, №6. – P. 1505-1533.
322. Whole-genome sequencing of liver cancers identifies etiological influences on mutation patterns and recurrent mutations in chromatin regulators / A. Fujimoto [et al.] // *Nat Genet.* – 2012. – Vol. 44, №7. – P. 760-764.
323. Why we need a noninvasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis with a high sensitivity / T.M. D'Hooghe [et al.] // *Gynecol Obstet Invest.* – 2006. – Vol. 62, № 3. – P. 136-138.
324. World Endometriosis Society consensus on the classification of endometriosis / N.P. Johnson [et al.] // *Hum Reprod.* – 2017. – Vol. 32, №2. – P.315-324.
325. ZNF366 is an estrogen receptor corepressor that acts through CtBP and histone deacetylases / J. Lopez-Garcia [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2006. – Vol. 34, №21. – P. 6126-6136.