

На правах рукописи

ФИЛИППОВА

Елена Сергеевна

ТАКТИКА ВЕДЕНИЯ ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С
ЭНДОМЕТРИОИДНЫМИ КИСТАМИ ЯИЧНИКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ
СОСТОЯНИЯ ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва 2019

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Эндометриоидные кисты яичников (ЭКЯ) являются наиболее распространенной формой наружно – генитального эндометриоза. Среди женщин репродуктивного возраста, страдающих эндометриозом, ЭКЯ выявляются в 20 – 40% случаев (Л.В. Адамян 2013). Несмотря на то, что первичная манифестация симптомов эндометриоза (по данным Международной Ассоциации Эндометриоза) возникает в 21% случаев до 15 лет, в 17% в возрасте между 15 и 19 годами, диагноз устанавливается в среднем через 7 – 8 лет после появления жалоб. ЭКЯ обнаруживаются в основном при ультразвуковом исследовании, либо во время лапароскопии по поводу бесплодия (20 – 55%). Лапароскопия признана «золотым стандартом» в лечении доброкачественных образований яичников. Однако, частота наступления беременности после оперативного лечения колеблется от 20% до 50% в первый год после операции и снижается на 4% каждый последующий год (Р.Л. Neil 2013). Причина бесплодия при ЭКЯ многофакторна и является серьезной медико – социальной проблемой.

Степень разработанности темы исследования

Эндометриоз, как причина бесплодия, занимает второе место после воспалительных заболеваний матки и придатков. До 40% больных ЭКЯ сталкиваются с проблемами бесплодия (Л.В. Адамян 2013). Связь эндометриоза с бесплодием была доказана рядом ученых еще более 20 лет назад (М.И. Ярмолинская 2013). Однако до настоящего времени точного механизма развития бесплодия при ЭКЯ не установлено. Как хирургическое вмешательство на яичниках по поводу эндометриоидных кист, так и сами кисты могут быть причиной бесплодия. У больных с ЭКЯ бесплодие связывают с сокращением овариального резерва, наличием дистрофических процессов в гранулезных клетках фолликулов, изменением состава фолликулярной жидкости, повышенным апоптотическим индексом клеток гранулезы, дегенерацией ооцитов (В.Ю. Смольникова 2004, Л.В. Адамян 2009, М. Kitajima 2014, О. Donnez 2014, S.E Vulun 2017). В последнее время

актуальной темой исследований является изучение роли микроРНК (мкРНК) в патогенезе эндометриоза и развития бесплодия. Изменение экспрессии мкРНК может способствовать как прогрессированию эндометриоза, так и повреждению окружающих тканей яичника и снижению ОР. Выявление факторов патологического воздействия на ткани яичника может способствовать развитию дополнительных подходов в терапии эндометриоза и профилактики снижения овариального резерва. Определение овариального резерва до и после операции играет важную роль в сохранении и восстановлении репродуктивного здоровья женщин.

Цель исследования:

Повышение эффективности хирургического лечения женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников на основании изучения состояния овариального резерва с использованием молекулярно-биологических маркеров и ранжированного подхода к оперативному вмешательству.

Задачи исследования:

1. Оценить состояние овариального резерва у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников до и после хирургического лечения.
2. Провести сравнительный анализ экспрессии микроРНК в тканях эктопического и эутопического эндометрия у пациенток с эндометриоидными кистами яичников и выявить взаимосвязь между состоянием овариального резерва и экспрессией микроРНК в тканях эндометрия у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников.
3. Провести транскриптомный анализ экспрессии генов, выделенных в тканях эутопического и эктопического эндометрия и оценить взаимосвязь дифференциально экспрессирующихся генов и микроРНК с патогенетическими механизмами снижения овариального резерва при эндометриоидных кистах яичников.
4. Изучить состояние репродуктивной функции у женщин с эндометриоидными кистами яичников до и после оперативного лечения.

5. Составить модель прогноза снижения овариального резерва и разработать алгоритм индивидуальной тактики лечения женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников в зависимости от состояния овариального резерва, степени распространения эндометриоза и предшествовавшего оперативного вмешательства.

Научная новизна исследования

Впервые была проведена сравнительная оценка экспрессии мкРНК и мРНК в тканях эндометриоидных кист яичника относительно тканей эутопического эндометрия как при нормальном, так и при низком овариальном резерве. Был выполнен биоинформационный анализ транскриптомных данных, на основании которого были установлены внутриклеточные сигнальные пути и процессы, участвующие в патогенезе эндометриоза и развитии низкого овариального резерва при эндометриоидных кистах яичников. Выделенные с помощью биоинформационного анализа молекулярные эффекторы возможно рассматривать в качестве перспективных мишеней для таргетной терапии эндометриоза с учетом состояния овариального резерва.

Практическая значимость

Произведена оценка овариального резерва у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников до и после операции. На основании клиничко – анамнестических и лабораторных данных составлена модель прогноза снижения овариального резерва у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников на этапе до хирургического лечения и после операции. Произведена оценка репродуктивных исходов у пациенток, перенесших оперативное вмешательство на яичниках по поводу эндометриоидных кист.

Методология и методы исследования

Проведено проспективное исследование, включавшее 136 женщин репродуктивного возраста с ЭКЯ, подписавших добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование выполнено на базе гинекологического отделения (руководитель – академик РАН, профессор, д.м.н. Л.В. Адамян) ФГБУ «НМИЦ АГиП им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ

(директор – академик РАН, профессор, д.м.н. Г.Т. Сухих). Пациентки были разделены на две группы в зависимости от состояния овариального резерва (I группа (n = 87) - с исходно нормальным ОР, II группа (n = 49) - с исходно низким ОР). Оценка состояния ОР проводилась до операции и через 3 и 6 месяцев после операции. Определяли уровень АМГ и ФСГ в сыворотке крови, при УЗИ подсчитывали количество антральных фолликулов в яичниках. Диагноз ЭКЯ был подтвержден во время гистологического исследования, которое выполнялось в 1-ом патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГиП им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ (руководитель – профессор, д.м.н. А.И. Щеголев).

Часть материала (капсула ЭКЯ и эндометрий) была отобрана для исследования экспрессии уровней микроРНК, исследование выполнялось в лаборатории молекулярной патофизиологии ФГБУ «НМИЦ АГиП им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ (руководитель – к.х.н. М.Ю. Бобров).

Положения, выносимые на защиту

1. Снижение овариального резерва отмечается у 49% женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников. Статистически достоверными факторами низкого овариального резерва до операции являются: возраст пациенток старше 32 лет, ранее перенесенные операции на яичниках, рецидив эндометриоидной кисты, двустороннее поражение яичников эндометриоидными кистами, размеры эндометриоидных кист более 6 см и III – IV стадия распространения эндометриоза. В послеоперационном периоде статистически достоверными факторами, влияющими на снижение овариального резерва, являются: двусторонняя резекция яичников, диаметр кист более 4-х см, а также исходный уровень АМГ 2 нг/мл и ниже.

2. У пациенток с эндометриоидными кистами яичников с низким и нормальным овариальным резервом наблюдается разнонаправленная экспрессия микроРНК в тканях эндометриоидной кисты по сравнению с эутопическим эндометрием. Наиболее выраженные различия выявлены при исходно нормальном овариальном резерве. При низком овариальном резерве отмечена экспрессия трех микроРНК (hsa-miR-129-2-3p, hsa-miR-129-5p, hsa-miR-615-3p) не характерных для

нормального овариального резерва. По данным биоинформационного анализа дифференциально экспрессированные микроРНК и их гены-мишени принимают участие в регуляции клеточного цикла, дифференцировки и процессов воспаления.

3. Установлена дифференциальная экспрессия микроРНК в тканях одинаковой локализации при разном типе овариального резерва, которая имеет разнонаправленный характер. Методами секвенирования и ПЦР выявлены микроРНК (hsa-miR-1-3p, -143-3p, -381-3p) с повышенной экспрессией в эндометрии, характерные только для низкого овариального резерва.

4. Снижение функции яичника связано с изменением экспрессии генов в тканях эктопического и эутопического эндометрия: низкий овариальный резерв характеризуется значительным снижением числа дифференциально экспрессированных генов. Дифференциально экспрессирующиеся микроРНК и их гены-мишени формируют пути внутриклеточной сигнализации, регулируя процессы репарации ДНК, клеточного деления, тканевого ремоделинга, клеточной адгезии, воспаления и окислительного стресса. Различная экспрессия микроРНК и их генов-мишеней при нормальном и низком овариальном резерве согласуются с клиническими проявлениями и длительностью заболевания, стадией распространения эндометриоза, низким процентом реализации репродуктивной функции и низкой эффективностью ВРТ.

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в определении тематики научной работы и формировании ее методологической структуры. Осуществляла разработку целей и задач, обобщение материала, подбор пациенток, сбор анамнеза, проводила забор биологических материалов для исследования; самостоятельно выполняла анализ данных, полученных при исследовании. Принимала личное участие в обследовании, оперативном лечении больных и их послеоперационном ведении.

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 пункту 4 и 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность выполненного исследования определяется достаточным количеством пациенток, включенных в исследование (136 пациенток), применением современных методов обследования пациенток и статистической обработкой данных.

Апробация результатов

Апробация диссертации была проведена на межклинической конференции (3 сентября 2018 г.) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В.И. Кулакова» Минздрава России (25 марта 2019 г., протокол №5).

Основные положения работы доложены и обсуждены на международных и российских конференциях:

Основные положения работы доложены и обсуждены на международных и российских конференциях: XI, XII, XIII Международных конгрессах по репродуктивной медицине (Москва 2017, 2018, 2019), XXIII и XXIV Всероссийских конгрессах с международным участием «Амбулаторно – поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья» (Москва, 2017 и 2018), XXX, XXXI и XXXII Международных конгрессах с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2017, 2018 и 2019), XVIII и XIX Всероссийских научно – образовательных форумах «Мать и дитя» (Москва 2017 и 2018), Российской научно – практической конференции «Гинекологическая эндокринология в возрастном аспекте: проблемы и решения» (Москва, 2017), I Национальном конгрессе с международным участием «Лабораторные технологии в репродуктивной медицине и неонатологии: от науки к практике» (Москва, 2019).

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные научные и практические данные внедрены в работу гинекологического отделения отдела оперативной гинекологии и общей хирургии

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России. По теме диссертации опубликована 10 печатных работ, в том числе 5 - в рецензируемых научных изданиях.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 164 страницах и состоит из введения, 4 глав, посвященных обзору литературы, описанию методов исследования, результатам собственных наблюдений, обсуждению полученных результатов, а также выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 26 таблицами и 21 рисунками. Библиографический указатель содержит 243 источника, из них 39 отечественных и 204 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

На первом этапе оценивалось состояние ОР до операции. Всем 136 пациенткам было выполнено оперативное лечение в объеме лапароскопии, резекции яичников, гистероскопии, диагностического выскабливания эндометрия. Операцию выполняли хирурги, имеющие многолетний опыт работы в репродуктивной хирургии. Во время лапароскопии вылушивание капсулы ЭКЯ выполнялось с максимальным сохранением здоровой ткани яичников и фолликулов с использованием атравматичных зажимов. Капсулу кисты вылушивали постепенно путем переменных противотракций. С целью минимализации коагуляционной травмы ткани яичника биполярная электрокоагуляция начиналась с более низкой мощности (35 Ватт). Ключевым моментом гемостаза являлось очень короткое время экспозиции биполярной энергии, обильное орошение и охлаждение ткани яичника физиологическим раствором. Интраоперационная кровопотеря была минимальной во всех случаях, дополнительного гемостаза не потребовалось. Послеоперационный период протекал гладко, осложнений не было. Все пациентки были выписаны домой на 4 – 7 сутки после операции в удовлетворительном состоянии под наблюдение врача женской консультации по месту жительства. На втором этапе исследования в обеих группах пациентов проводилось изучение состояния овариального резерва через 3

и 6 месяцев оперативного лечения. С целью выяснения причин снижения ОР в послеоперационном периоде I группа женщин была разделена на две подгруппы на основании состояния ОР. Через 3 месяца после операции **I_{a3} подгруппу** составили 17 пациенток с низким ОР, **I_{b3} подгруппу** - 70 пациенток с нормальным ОР. Через 6 месяцев после операции **I_{a6} подгруппу** составили 18 пациенток с низким ОР, **I_{b6} подгруппу** - 69 пациенток с нормальным ОР (Рисунок 1).



Рисунок 1 - Дизайн исследования.

Для осуществления третьего этапа исследования часть образцов тканей капсулы эндометриоидной кисты яичника и эутопического эндометрия были отправлены для выделения микро-РНК. Полученный материал был разделен на две группы, в зависимости от состояния овариального резерва пациенток до операции (Рисунок 2).



Рисунок 2 - Дизайн третьего этапа исследования.

Статистический анализ клинико – лабораторных данных был произведен на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и программы «Statistica V10» (США), SPSSSoftwareV22.0 (США).

Результаты исследований и их обсуждение

До операции была проведена оценка состояния ОР в обеих группах на основании уровней АМГ, ФСГ, количества антральных фолликулов по данным УЗИ, результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1 - Состояние овариального резерва женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников до хирургического лечения

Показатель	Все пациенты с ЭКЯ (n=136)		χ ² /p
	I группа, пациенты с нормальным ОР до операции (n=87)	II группа, пациенты с низким ОР до операции (n=49)	
Уровень АМГ в сыворотке крови, нг/мл	4,02 ± 2,24	0,78 ± 0,32	0,0000**
Уровень ФСГ в сыворотке крови, МЕ/л	5,36 ± 2,41	9,15 ± 3,06	0,000022**
Кол-во антральных фолликулов (по УЗИ) > 5	75 (86,2%)	21 (42,9%)	28,372/0,000**
Кол-во антральных фолликулов (по УЗИ) < 5	12 (13,8%)	28 (57,1%)	

** - p < 0,001

Средний возраст пациенток составил 30,53 ± 3,86 лет. Достоверно чаще пациентки старше 31 года были во II группе, p = 0,0011 (Таблица 2).

Таблица 2 – Распределение пациенток по возрасту

Показатель	Все пациенты с ЭКЯ (n=136)		χ ² /p
	I группа, пациенты с нормальным ОР до операции (n=87)	II группа, пациенты с низким ОР до операции (n=49)	
Средний возраст, лет	29.44 ± 3.82	32.02 ± 3.50	0,000109**
18 – 30 лет	62 (45,6%)		11,215/0,0011*
	49 (56,3%)	13 (26,5%)	
31 – 37 лет	74 (54,4%)		11,215/0,0011*
	38 (43,7%)	36 (73,5%)	

*-p < 0,05; ** - p < 0,001

Основными жалобами, предъявляемыми пациентками обеих групп были болевой синдром и бесплодие (Таблица 3).

Таблица 3 – Жалобы пациенток с ЭКЯ

Показатель	Все пациенты с ЭКЯ (n=136)		χ ² /p
	I группа, пациенты с нормальным ОР до операции (n=87)	II группа, пациенты с низким ОР до операции (n=49)	
Боли внизу живота	95 (69,9%)		5,047/0,032*
	55 (63,2%)	40 (81,6%)	
Болезненный менструации	89 (65,4%)		3,434/0,090
	52 (59,8%)	37 (75,5%)	
Диспареуния	27 (19,8%)		0,324/0,655
	16 (18,4%)	11 (22,4%)	
Бесплодие	53 (39%)		1,132/0,3601
	31 (35,6%)	22 (44,9%)	
Отсутствие жалоб	5 (3,7%)		0,579/0,654
	4 (4,6%)	1 (2%)	

*- p < 0,05

До момента обнаружения ЭКЯ болевой синдром в I группе существовал в среднем $18,49 \pm 14,05$ месяцев, во II группе $31,66 \pm 26,70$ месяцев, p = 0,006. Первичное бесплодие встречалось в I группе у 25 (28,7%), во II группе у 19 женщин (38,8%), p = 0,230. Вторичным бесплодием страдали 4 женщины (4,6%) в I группе и 3 (6,1%) во II группе, p=0,862. Длительность бесплодия была значительно больше во II группе, по сравнению с I группой пациенток ($5,18 \pm 3,11$ и $2,97 \pm 2,47$ лет соответственно), p=0,009.

Гинекологические заболевания в анамнезе выявлены у 114 пациенток из 136 (83,8%), Таблица 4.

Таблица 4 - Структура гинекологической патологии

Показатель	Все пациенты с ЭКЯ (n=136)		χ ² /p
	I группа, пациенты с нормальным ОР до операции (n=87)	II группа, пациенты с низким ОР до операции (n=49)	
Вся гинекологическая патология	114 (83,8%)		7,674/0,00539*
	65 (74,7%)	46 (93,8%)	
Эктопия шейки матки	75 (55,1%)		0,135/0,737
	49 (56,3%)	26 (53,1%)	
Воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ)	64 (47,1%)		0,113/0,858
	40 (46%)	24 (40,8%)	
Миома тела матки	23 (16,9%)		3,130/0,096
	11 (12,6%)	12 (24,5%)	
Аденомиоз	24 (17,6%)		4,159/0,059
	11 (12,6%)	13 (26,5%)	
Наружно – генитальный эндометриоз брюшины малого таза	24 (17,6%)		19,203/0,00003**
	6 (6,9%)	18 (36,7%)	
Эндометриоидные кисты яичников	21 (15,4%)		13,502/0,0004**
	6 (6,9%)	15 (30,6%)	
Полипы и гиперплазии эндометрия	12 (8,8%)		1,115/0,349
	6 (6,9%)	6 (12,2%)	
Кистозные образования яичников	13 (9,6%)		0,639/0,545
	7 (8,0%)	6 (12,2%)	
Пороки развития половых органов	4 (2,9%)		0,349/0,619
	2 (2,3%)	2 (4,1%)	

*-p < 0,05; **- p < 0,001

Операции на яичниках в анамнезе перенесли 28 женщин (20,6%) из 136 - 9 (10,3%) из I группы и 19 (38,8%) из II группы ($p = 0,00014$), что статистически достоверно явилось риском снижения ОР (Рисунок 2).

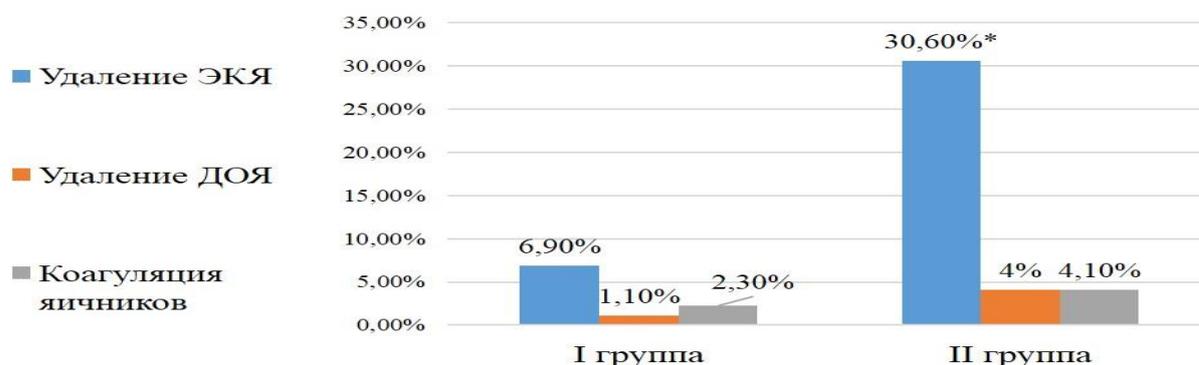


Рисунок 2 - Структура оперативных вмешательств на яичниках в анамнезе.

Интраоперационно односторонние ЭКЯ выявлены у 95 (69,9%) женщин, двусторонние ЭКЯ - у 41 (30,1%) из 136. При этом двусторонние ЭКЯ отмечены у 20 женщин (23%) I группы и у 21 женщины (42,9%) II группы соответственно, $p = 0,016$ (Рисунок 3).

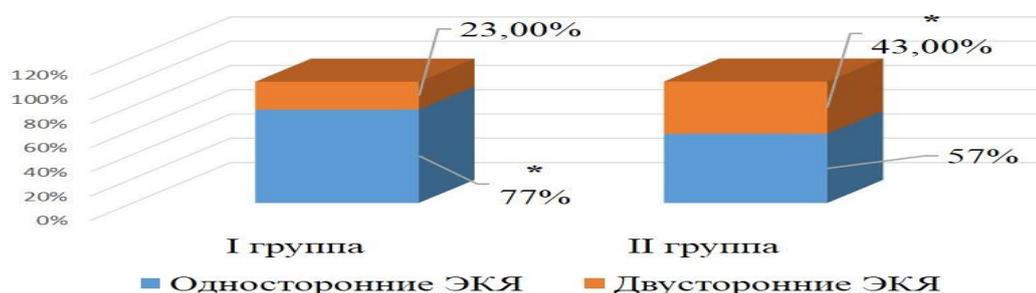


Рисунок 3 - Латеральность поражения яичников эндометриоидными кистами.

Общий размер кисты составил $7,87 \pm 4,70$ см во II группе по сравнению с $6,01 \pm 4,17$ см в I группе, $p=0,0227$. ЭКЯ диаметром более 4 см были выявлены у 81 женщины из 136 (59,6%), менее 4 см – у 55 женщин из 136 (40,4%). ЭКЯ больших размеров преобладали в группе женщин с исходно низким ОР, $p = 0,005$ (Рисунок 4).

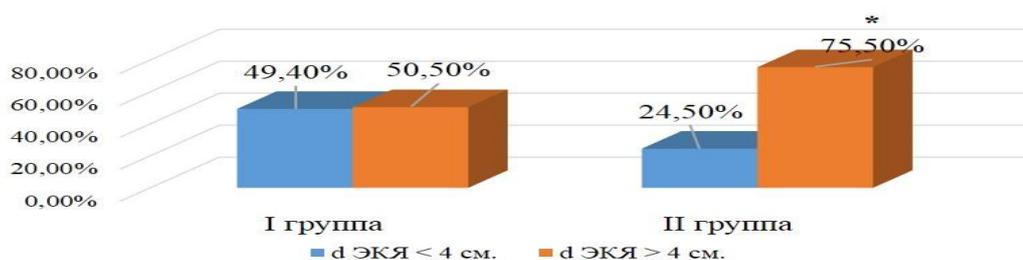


Рисунок 4 - Диаметр ЭКЯ в группах исходно нормального и низкого ОР.

В I группе 3 – 4 стадия распространения эндометриоза выявлена у 29 женщин (33,3%), во II группы - у 33 пациенток (67,3%), $p=0,00016$ (рисунок 5).

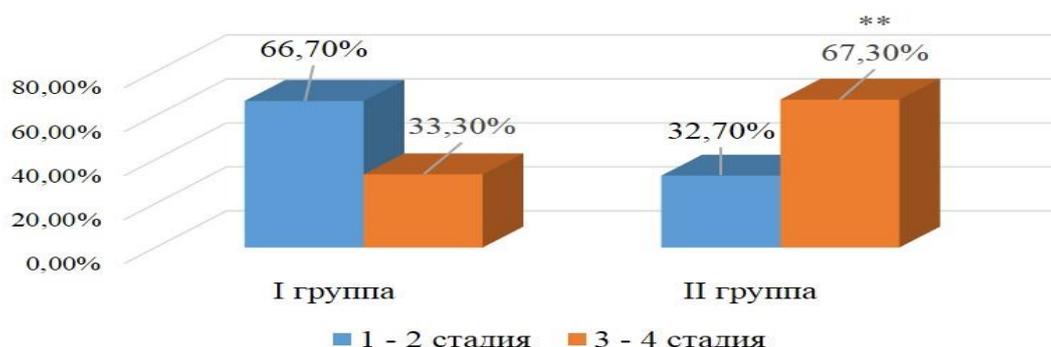


Рисунок 5 – Стадия распространения эндометриоза в группах.

Таким образом, низкий овариальный резерв до операции был ассоциирован с возрастом пациенток старше 30 лет, наличием в анамнезе операций на яичниках (в том числе по поводу ЭКЯ), рецидивом ЭКЯ, стадией распространения процесса (3 – 4 ст), двусторонним поражением ЭКЯ и большим размером кисты (более 6 см).

После операции уровень АМГ снижался по сравнению с исходным у всех 136 женщин. Динамика изменения уровня гормонов в группах в послеоперационном периоде представлена на Рисунке 6.

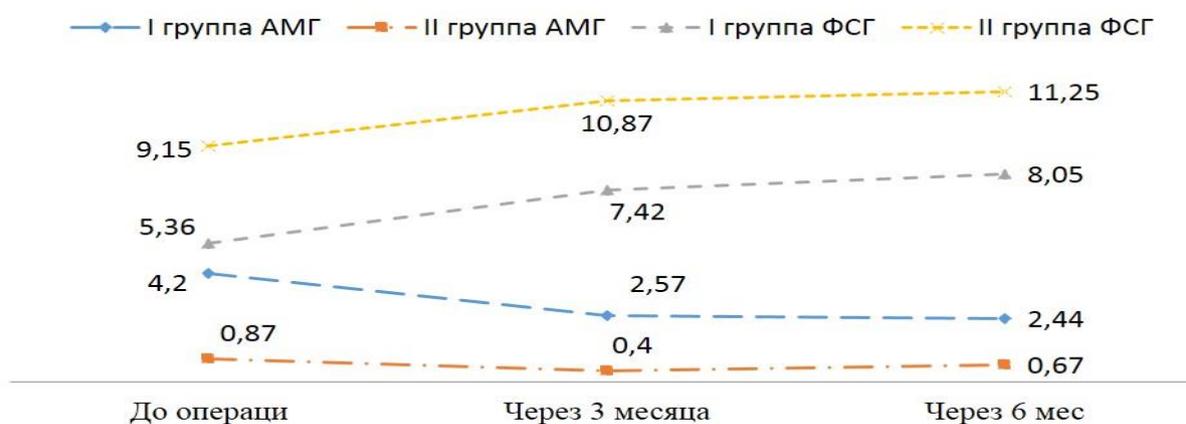


Рисунок 6 - Динамика уровня АМГ и ФСГ в группах.

В послеоперационном периоде при УЗИ было отмечено снижение объема яичников и количества антральных фолликулов как в I, так и во II группе пациенток (Таблица 5).

Таблица 5 – УЗ оценка состояния яичников

Показатель	Все пациенты с ЭКЯ (n=136)		χ ² /p
	I группа, пациенты с нормальным ОР (n=87)	II группа, пациенты с низким ОР (n=49)	
Через 3 месяца после операции			
Объем яичников менее 3 см ³	27 (30%)	33 (67,3%)	16,765/0,00006**
Объем яичников более 3 см ³	60 (70%)	16 (32,7%)	
Количество антральных фолликулов менее 5	23 (26,4%)	41 (83,7%)	41,218/0,000001**
Количество антральных фолликулов более 5	64 (73,6%)	8 (16,3%)	
Через 6 месяцев после операции			
Объем яичников менее 3 см ³	26 (29,9%)	37 (75,5%)	26,242/0,000001**
Объем яичников более 3 см ³	61 (70,1%)	12 (24,5%)	
Количество антральных фолликулов менее 5	25 (28,7%)	41 (83,7%)	37,875/0,000001**
Количество антральных фолликулов более 5	62 (71,3%)	8 (16,3%)	

** - p < 0,001

В I группе через 3 месяца после хирургического лечения 17 женщин (19,5%) имели низкий ОР (АМГ < 1,0 нг/мл), у 70 пациентов (80,5%) сохранился нормальный ОР. Через 6 месяцев после операции низкий ОР в I группе был у 18 женщин (20,7%), нормальный овариальный резерв - у 69 пациенток (79,3%). Нами был произведен сравнительный анализ уровня АМГ и ФСГ в подгруппах Ia₃ и Ib₃ через три месяца после операции, а также оценка состояния яичников по данным УЗИ. Различия по данным критериям явились статистически достоверными, представлены в Таблице 6.

Таблица 6 - Состояние овариального резерва в I группе через 3 месяца после операции

Показатель	I группа пациентов с ЭКЯ через 3 месяца после операции (n=87)		χ ² /p
	Ia ₃ подгруппа, пациенты с низким ОР (n=17)	Ib ₃ подгруппа, пациенты с нормальным ОР (n=70)	
Уровень АМГ (нг/мл)			
До операции	2,92±1,80	4,75±2,26	0,000779**
Через 3 месяца после операции	0,93±0,15	3,13±1,81	0,000001**
Уровень ФСГ (МЕ/л)			
До операции	6,95±3,99	4,54±2,36	0,03929*
Через 3 месяца после операции	9,53±2,26	5,31±1,76	0,000001**
Объем яичников менее 3 см ³			
Через 3 месяца после операции	13 (76,5%)	14 (20%)	20,380/0,00002**
Количество антральных фолликулов менее 5			
До операции	10 (58,8%)	2 (2,9%)	36,031/0,00001**
Через 3 месяца после операции	16 (94,1%)	7 (10%)	49,766/0,00001**

*-p < 0,05; ** - p < 0,001

При оценке динамики уровня гормонов выявлено, что в Ia₃ подгруппе изначально показатель АМГ составил $2,92 \pm 1,80$ нг/мл, а в Ib₃ подгруппе составлял $4,75 \pm 2,26$ нг/мл (рисунок 6).

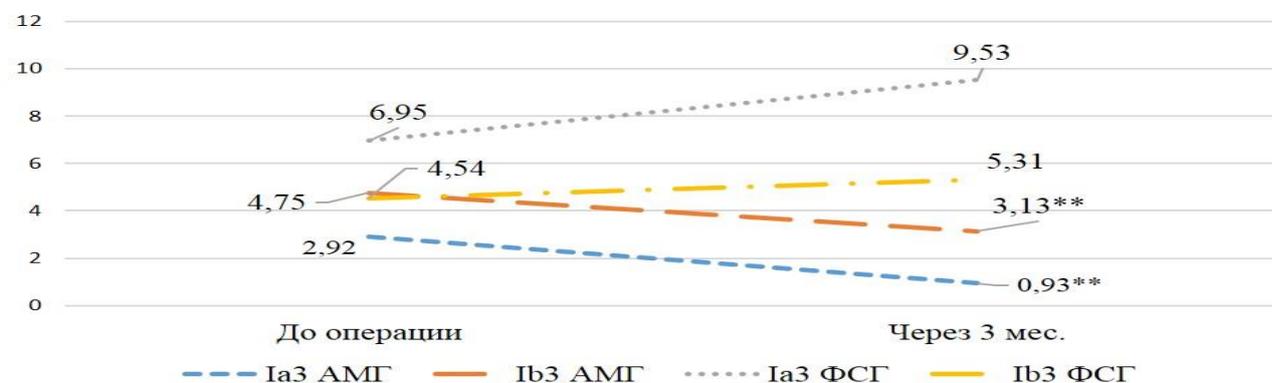


Рисунок 6 - Динамика уровня АМГ и ФСГ в Ia₃ и Ib₃ подгруппах.

Также в подгруппе Ia₃ до операции больше чем у половины пациенток (58,8%) по данным УЗИ количество антральных фолликулов было менее 5. Эти данные позволили нам сделать вывод, что при изначально не высоком уровне АМГ (в пределах $2,92$ нг/мл) в сочетании с малым количеством антральных фолликулов по УЗИ возможно ожидать снижение ОР уже через 3 месяца после операции, $p < 0,001$.

Наиболее значимые факторы, влияющие на снижение ОР после операции среди пациенток I группы, выявленные при статистическом анализе представлены в Таблице 7.

Таблица 7 - Клиническая характеристика пациенток I группы через 3 месяца после операции

Показатель	I группа пациентов с ЭКЯ через 3 месяца после операции (n=87)		χ^2/p
	Ia ₃ подгруппа, пациенты с низким ОР (n=17)	Ib ₃ подгруппа, пациенты с нормальным ОР (n=70)	
Средний возраст на момент операции (лет)	$30,59 \pm 3,76$	$29,33 \pm 3,78$	0,23
Операции на яичниках в анамнезе	4 (23,5%)	5 (7,1%)	3,960/0,0686
Рецидив эндометриозной кисты	4 (23,5%)	1 (1,4%)	12,334/0,00468*
Двусторонняя резекция яичников	14 (82,4%)	6 (8,6%)	42,059/0,000001**
Диаметр кист более 4 см	14 (82,4%)	30 (42,9%)	8,536/0,00574*
1 – 2 стадия распространения процесса	5 (29,4%)	53 (75,7%)	13,196/0,00094**
3 – 4 стадия распространения процесса	12 (70,6%)	17 (24,3%)	

*- $p < 0,05$; **- $p < 0,001$

Через 6 месяцев после операции в I группе пациентов (n = 87) низким ОР был у 18 женщин (20,7%), нормальным - у 69 женщин (79,3%). Динамика изменения уровня гормонов в Ia₆ и Ib₆ подгруппах представлена на Рисунке 7.

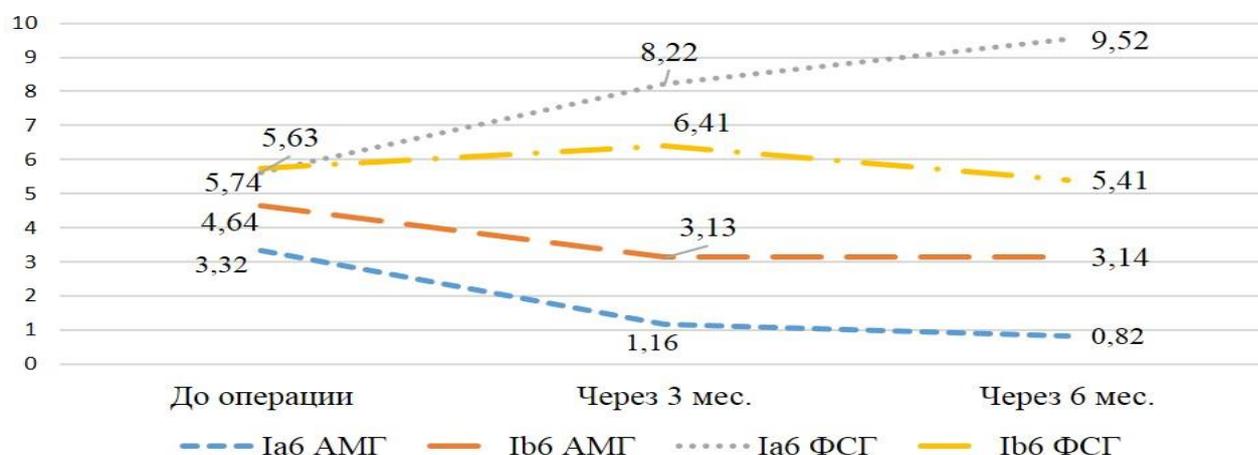


Рисунок 7 - Динамика уровня AMГ и ФСГ в Ia₆ и Ib₆ подгруппах.

При оценке ультразвуковых критериев состояния ОР в подгруппах через 6 месяцев после операции выявлено: объем яичников менее 3 см³ был у 17 пациенток в Ia₆ подгруппе и у 9 женщин в Ib₆ подгруппе, сниженное число антральных фолликулов зафиксировано у 17 и 8 пациенток в Ia₆ и в Ib₆ подгруппах соответственно (p<0,01), Таблица 8.

Таблица 8 - Состояние овариального резерва в I группе через 6 месяцев после операции

Показатель	I группа пациентов с ЭКЯ через 6 месяца после операции (n=87)		χ ² /p
	Ia ₆ подгруппа, пациенты с низким ОР (n=18)	Ib ₆ подгруппа, пациенты с нормальным ОР (n=69)	
Уровень AMГ (нг/мл)			
До операции	3,32±2,16	4,64±2,25	0,031570*
Через 3 месяца после операции	1,16±0,55	3,13±1,87	0,000001**
Через 6 месяцев после операции	0,82±0,29	3,14±1,76	0,000001**
Уровень ФСГ (МЕ/л)			
До операции	5,63±2,39	5,74±3,99	0,1
Через 3 месяца после операции	8,22±3,03	6,41±2,36	0,05
Через 6 месяцев после операции	9,52±1,84	5,41±1,87	0,000001**
Объем яичников менее 3 см³			
Через 3 месяца после операции	13 (72,2%)	14 (20,3%)	17,989/0,00006**
Через 6 месяцев после операции	17 (94,4%)	9 (13%)	45,144/0,00001**
Количество антральных фолликулов менее 5			
До операции	10 (58,8%)	2 (2,9%)	33,290/0,00001**
Через 3 месяца после операции	16 (88,9%)	7 (10,1%)	45,516/0,00001**
Через 6 месяцев после операции	17 (94,4%)	8 (11,6%)	47,852/0,00000**

*- p < 0,05; **- p < 0,001

Наиболее значимые факторы, влияющие на снижение ОР через 6 месяцев после операции представлены в Таблице 9.

Таблица 9 - Факторы риска снижения овариального резерва у пациенток I группы через 6 месяцев после операции

Показатель	I группа пациентов с ЭКЯ через 3 месяца после операции (n=87)		χ^2/p
	Ia ₆ подгруппа, пациенты с низким ОР (n=18)	Ib ₆ подгруппа, пациенты с нормальным ОР (n=69)	
Двусторонняя резекция яичников	16 (88,9%)	4 (5,8%)	55,674/0,000001**
Диаметр кист более 4 см	15 (83,3%)	29 (42%)	9,743/0,00287*
3 – 4 стадия распространения процесса	12 (66,7%)	17 (24,6%)	11,348/0,00151*

*- $p < 0,05$; **- $p < 0,001$

Таким образом, двусторонняя резекция яичников, степень распространения эндометриоза, диаметр эндометриоидных кист более 4 см, а также предоперационный уровень АМГ и количество антральных фолликулов, явились статистически значимыми факторами, влияющими на развитие низкого овариального резерва как через 3 месяца, так и через 6 месяцев после операции.

Из 136 пациенток, включенных в исследование, 115 (84,6%) женщин были заинтересованы в реализации репродуктивной функции. После операции пациентки были направлены на консультацию к репродуктологу с целью решения вопроса о возможности наступления самостоятельной беременности или необходимости проведения ЭКО. После операции из 115 женщин, пытавшихся реализовать репродуктивную функцию, беременность наступила у 42 (36,5%): в I группе - у 35 (46,1%), во II группе - 7 (17,9%), $p=0,004$ (Рисунок 8).

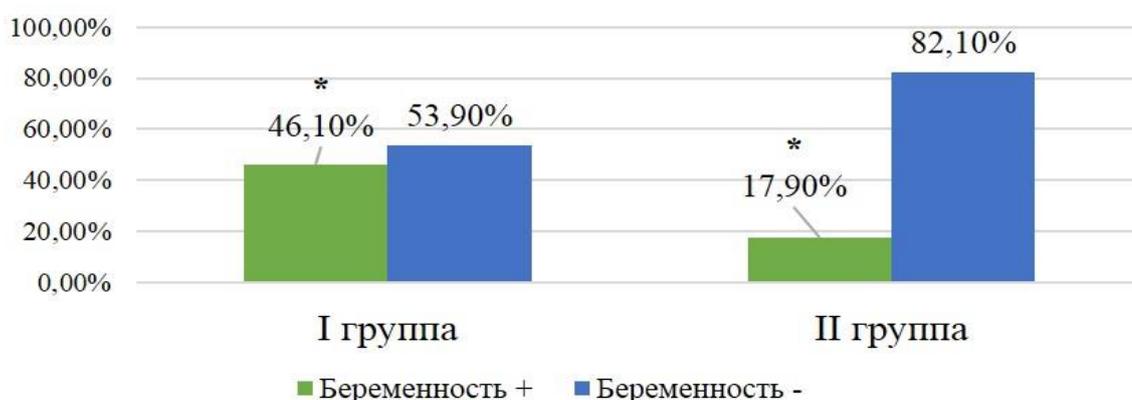


Рисунок 8 - Частота наступления беременности в группах после операции.

Самостоятельно беременность наступила у 25 (23,5%) из 115 женщин (у 25 пациенток (32,9%) из I группы и у 2 (5,1%) из II группы, $p=0,00085$), в результате ЭКО - у 15 (13%) из 115 пациенток (10 (13,2%) в I группе и 5 (12,8%) во II группе, $p = 0,960$). В I группе беременность, наступившая самостоятельно, завершилась родами у всех 25 женщин (32,9%), во II группе у 1 женщины (2,6%). Исходы ЭКО в I и II группе пациенток представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – Репродуктивные исходы

Показатель	115 женщин, пытавшихся реализовать репродуктивную функцию	
	I группа (n=76)	II группа (n=39)
Беременность, наступившая самостоятельно (23,5%)		
Роды	25 (32,9%)	1 (2,6%)
Неразвивающаяся беременность	0	1 (2,6%)
Беременность, наступившая с помощью ЭКО (13%)		
Роды	7 (9,2%)	1 (2,6%)
Неразвивающаяся беременность	0	2 (5,1%)
Отсутствие развития эмбрионов после переноса в полость матки	2 (2,6%)	0
Отсутствие дробления эмбрионов	1 (1,3%)	2 (5,1%)

Таким образом, анализ репродуктивной функции и исходов беременностей показал, что в послеоперационном периоде показатели наступления беременности остаются низкими (36,5%), доля неудачных попыток беременности составляет 70,5%. Беременность самостоятельно наступает в основном среди женщин с нормальным ОР. Чаще с целью наступления беременности используют ЭКО пациентки II группы. Неудачные попытки ЭКО связаны с отсутствием адекватного ответа яичников на гормональную стимуляцию, отсутствием дробления эмбриона *in vitro*, остановкой развития эмбриона после переноса в полость матки.

С целью установления патогенетических механизмов развития эндометриоза и его влияния на овариальный резерв нами был произведен анализ экспрессии микроРНК в тканях эндометриоидной кисты (Ec) и эутопического эндометрия (Eu) пациенток из группы исходно нормального (N) и исходно низкого (L) ОР. Сравнение экспрессии мкРНК производилось как между тканями внутри каждой группы, так и между группами с различным ОР.

Анализ экспрессии мкРНК в биоптатах ЭКЯ и эндометрия пациенток II группы выявил 15 дифференциально экспрессируемых мкРНК с пониженной экспрессией в тканях эндометриоидной кисты (EcL) относительно эутопического эндометрия (EuL), Рисунок 9а. В I группе пациенток было выявлено 100 дифференциально экспрессирующихся мкРНК: 66 с повышенной и 34 со сниженной экспрессией в тканях эндометриоидной кисты яичника (EcN) относительно эутопического эндометрия (EuN), Рисунок 9б.

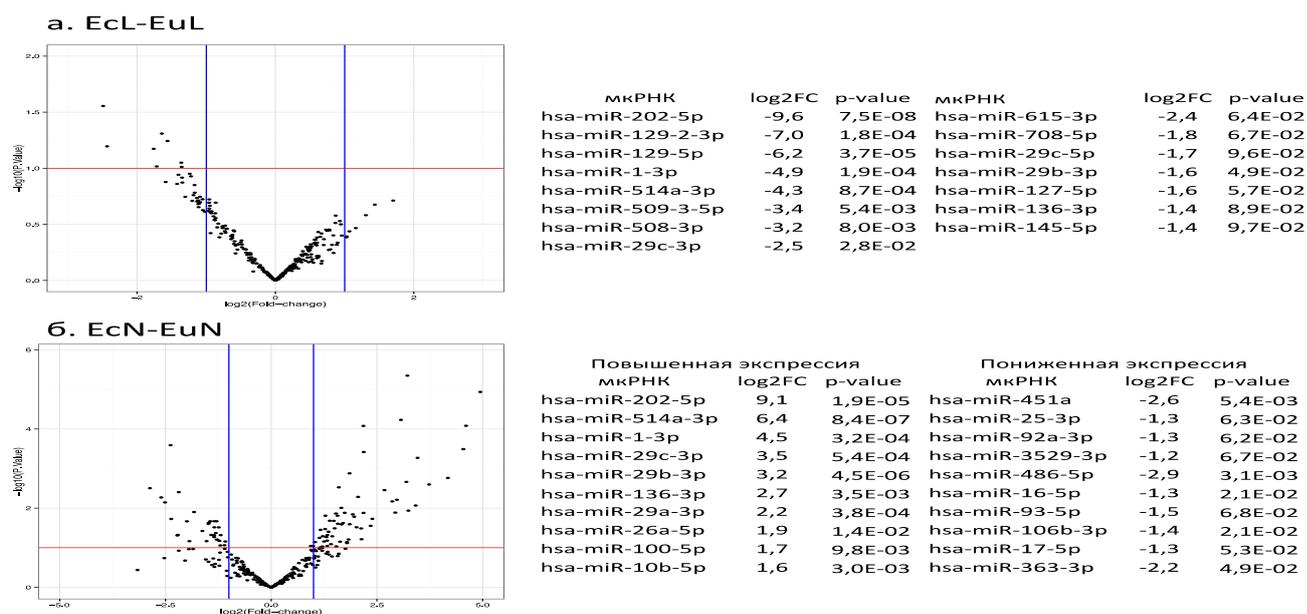


Рисунок 9 - Дифференциальная экспрессия мкРНК в эктопическом эндометрии овариальных кист относительно эутопического эндометрия при низком (а) и нормальном (б) ОР.

Пересечение полученных списков дэ-мкРНК при низком и нормальном резерве выявило три мкРНК (hsa-miR-129-2-3p, hsa-miR-129-5p, hsa-miR-615-3p), характерных только для низкого ОР.

При сравнении результатов секвенирования в эктопическом эндометрии при низком ОР относительно тканей эктопического эндометрия при нормальном ОР (EcL-EcN) наблюдалось 50 дэ-мкРНК с пониженной экспрессией и 14 мкРНК с повышенной экспрессией в тканях кисты при низком ОР относительно нормального ОР (Рисунок. 10а). 36 дэ-мкРНК с повышенной и 23 с пониженной экспрессией в эутопическом эндометрии при низком ОР относительно эутопического эндометрия группы нормального ОР (рисунок 10б).

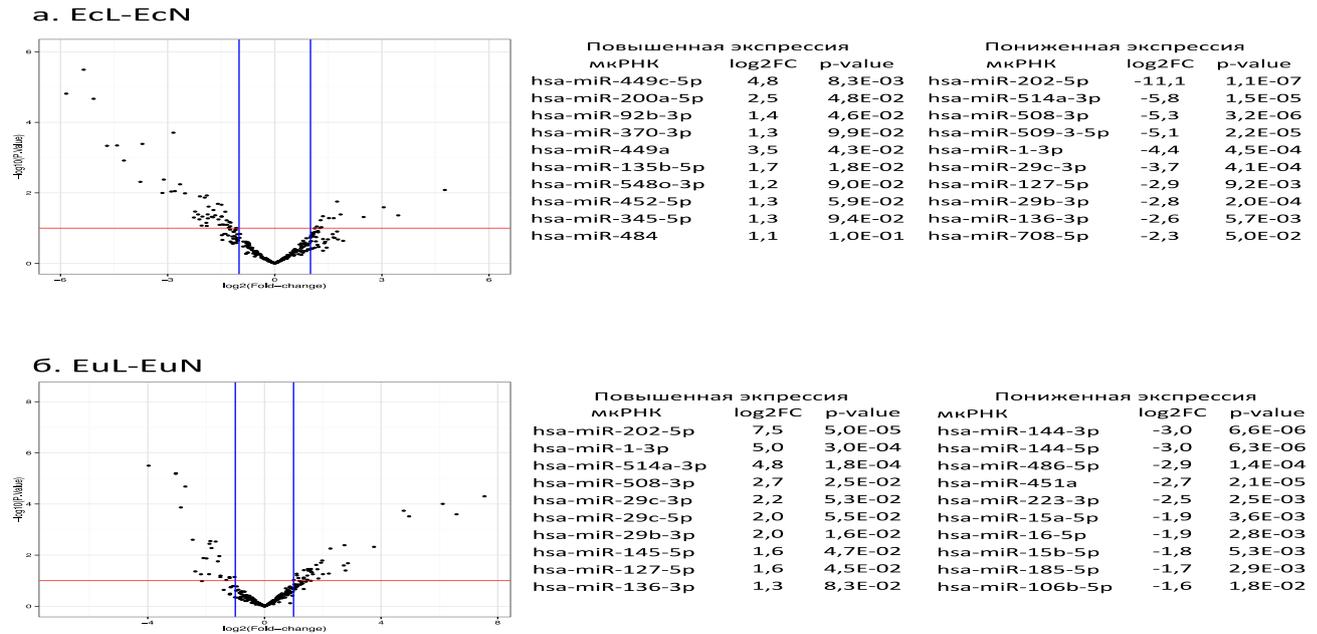


Рисунок 10 - Дифференциальная экспрессия мкРНК в эктопическом (а) и эутопическом (б) эндометрии при низком ОР относительно нормального.

Значительное отличие в количестве дифференциально экспрессированных мкРНК (дэ-мкРНК) свидетельствует о существенном дисбалансе регуляторных процессов в тканях ЭКЯ и эндометрия при различных типах ОР.

Для подтверждения полученных при секвенировании данных, мы использовали метод ПЦР. Для трех микроРНК (hsa-miR-1-3p, -143-3p, -381-3p) было установлено повышение экспрессии в тканях эутопического эндометрия при низком ОР. Найденные отличия свидетельствуют о том, что данные микроРНК могут служить потенциальными маркерами низкого овариального в эутопическом эндометрии у пациентов с эндометриозом (Рисунок 11).

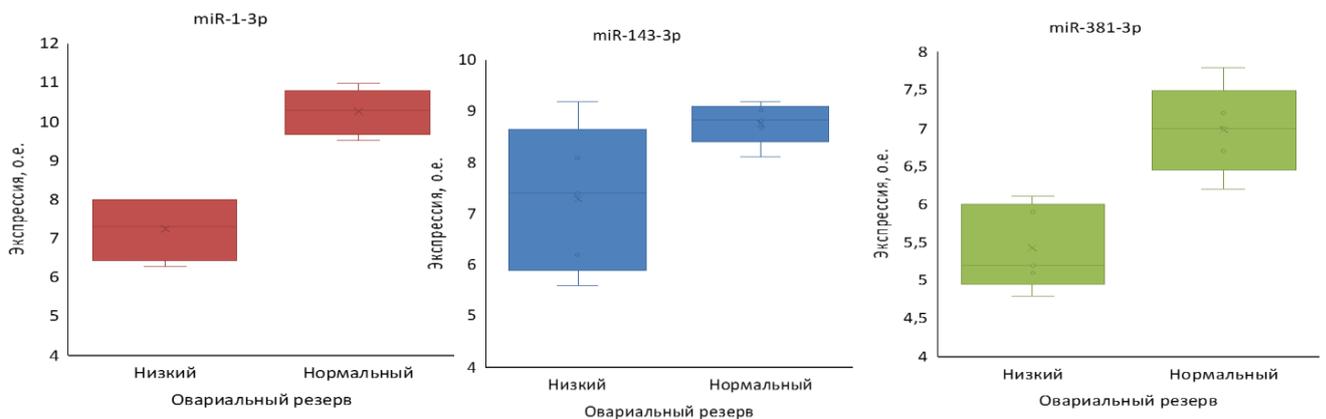


Рисунок 11 - Изменение экспрессии hsa-miR-1-3p, -143-3p, -381-3p в эутопическом эндометрии при низком и нормальном ОР.

Нами были получены списки валидированных генов-мишеней для дэ-мкРНК в тканях эктопического и эутопического эндометрия. Данный анализ выявил 24 клеточных процесса и сигнальных пути, среди которых особого внимания заслуживает обогащение по пути регуляции репарации ДНК с участием мкРНК. Активация данного пути может свидетельствовать о повышении уровня повреждений ДНК вследствие развития воспаления и оксидативного стресса в тканях эктопического эндометрия (Таблица 11).

Таблица 11 - Анализ путей и процессов, реализуемых при участии генов-мишеней дифференциально экспрессируемыми мкРНК в тканях эктопического и эутопического эндометрия.

Пути/процессы	Ec/Eu N		Ec/Eu L		EcL/EcN		EuL/EuN	
	Гены/Путь	q-value	Гены/Путь	q-value	Гены/Путь	q-value	Гены/Путь	q-value
Клеточные процессы								
Adipogenesis	51/104	1,0E-06					47/104	1,0E-06
Angiogenesis	15/23	4,0E-04	7/23	2,3E-03	12/23	8,0E-05	14/23	5,0E-06
Cell cycle					41/95	1,0E-06		
Cell Differentiation - Index	5/10	3,2E-02	3/10	6,0E-02			5/10	2,4E-02
Cell Differentiation - meta	9/16	1,1E-03	6/16	1,8E-03	8/16	2,0E-03	8/16	3,6E-03
DNA damage response (ATM)	40/76	4,2E-05			36/76	9,0E-06	38/76	6,1E-06
Endochondral Ossification	30/61	9,2E-05	15/61	8,1E-05	28/61	3,5E-06	27/61	6,3E-06
Focal Adhesion			45/177	1,3E-03	66/177	4,6E-03		
G1 to S cell cycle control					27/65	2,8E-02		
Integrated Breast Cancer Pathway	67/136	4,7E-05			60/136	2,0E-05	64/136	7,0E-06
Integrated Cancer pathway	22/35	3,2E-04	10/35	4,4E-04	20/35	1,7E-04	23/35	5,1E-05
Neural Crest Differentiation					34/83	1,9E-05		
Osteoblast Signaling	4/10	1,3E-01	4/10	1,0E-02	5/10	1,8E-02	5/10	2,4E-02
Senescence and Autophagy	43/88	2,0E-06	21/88	1,2E-05	39/88	1,7E-05	45/88	
Type II diabetes mellitus	7/16	2,3E-02			5/16	3,7E-02	6/16	5,2E-02
Иммунomodulatory пути								
Inflammatory Response Pathway			9/29	4,5E-04	12/29	9,3E-04		
IL-1 signaling pathway	20/50	2,6E-04						
IL-2 Signaling pathway			10/42	1,5E-03			23/42	9,0E-06
IL-3 Signaling Pathway			7/41	4,4E-02				
IL-4 signaling pathway	26/48	8,0E-05	13/48	1,2E-04			21/48	1,0E-05
IL-5 signaling pathway	22/39	5,2E-05	13/39	1,0E-05	19/39	9,3E-05	21/39	7,6E-06
IL-6 signaling pathway	22/42	3,9E-03						
IL-7 signaling pathway	14/25	4,0E-05	8/25	7,8E-04	12/25	2,0E-04	14/25	2,0E-05
IL-9 signaling pathway	9/16	1,1E-03	4/16	4,7E-02				
Клеточные процессы								
Alpha 6 Beta 4 signaling pathway	17/31	1,0E-05	8/31	2,9E-03			16/31	1,0E-05
Androgen recept signaling pathway	40/83	3,0E-06						
BMP signalling and regulation	6/12	1,9E-02			4/12	1,4E-02		
ErbB signaling pathway					24/54	2,9E-04		
EPO Receptor Signaling	15/26	1,0E-05	7/26	4,5E-03			14/26	3,0E-05
Estrogen signaling pathway	12/19	3,0E-05	9/19	2,0E-05	11/19	5,0E-05	13/19	3,0E-06
FSH signaling pathway	5/27	1,2E-02						
G13 Signaling Pathway	15/36	1,1E-03						
Keap1-Nrf2 Pathway	6/13	2,7E-02			4/13	1,7E-01		
Kit receptor signaling pathway			9/51	1,7E-02				
Leptin signaling pathway	37/61	8,0E-05	14/61	2,5E-04	28/61	1,2E-04	33/61	1,4E-06
miRNAs involved in DDR	12/15	1,0E-07			13/15	1,0E-07	12/15	1,0E-07
Notch Signaling Pathway	27/59	1,3E-02	15/59	1,1E-01	25/59	2,7E-03	25/59	1,6E-02
Osteopontin Signaling	7/11	1,8E-03	4/11	1,4E-02	5/11	2,8E-02		
Prolactin Signaling Pathway	41/75	3,0E-06			32/75	8,2E-06	38/75	4,4E-06
RANKL/RANK Signaling Pathway	26/53	5,3E-05			20/53	7,0E-05	24/53	5,8E-06
Signaling Hepatocyte Growth Factor Receptor			7/33	1,6E-02				
Signal Transduction of S1P Receptor			4/22	1,1E-01				
SREBF (miR33) in cholesterol/lipid homeostasis	11/16	3,0E-05			8/16	2,0E-03	10/16	9,0E-05
TGF Beta Signaling Pathway	29/52	1,7E-05	13/52	2,1E-04	24/52	1,8E-05	26/52	2,1E-05
TP53 network	12/19	3,0E-05	4/19	7,7E-02	10/19	3,0E-04	10/19	3,0E-04
TSH signaling pathway					26/65	2,4E-06	30/65	1,8E-06
TWEAK Signaling Pathway	20/39	2,3E-03					20/39	2,6E-03
Wnt Signaling Pathway					21/52	1,0E-05	21/52	5,0E-05

Ec – эктопический эндометрий, Eu – эутопический эндометрий, N – нормальный ОР, L – низкий ОР. Гены/Путь – указано количество генов-мишеней дэ-мкРНК в пути (первая цифра) и общее количество генов в пути (вторая цифра), q-value вероятность ошибки в формировании пути.

Для выявления особенностей экспрессии генов был проведен транскриптомный анализ в ряде парных образцов: эктопический (Ec) и эутопический (Eu) эндометрий при различном состоянии ОР. В результате анализа были получены списки дэ-мРНК, распределение которых по образцам представлено на Рисунке 12. Как и в случае с мкРНК, наблюдается выраженное снижение количества дифференциально экспрессированных генов в эктопическом эндометрии относительно эутопического при низком ОР.

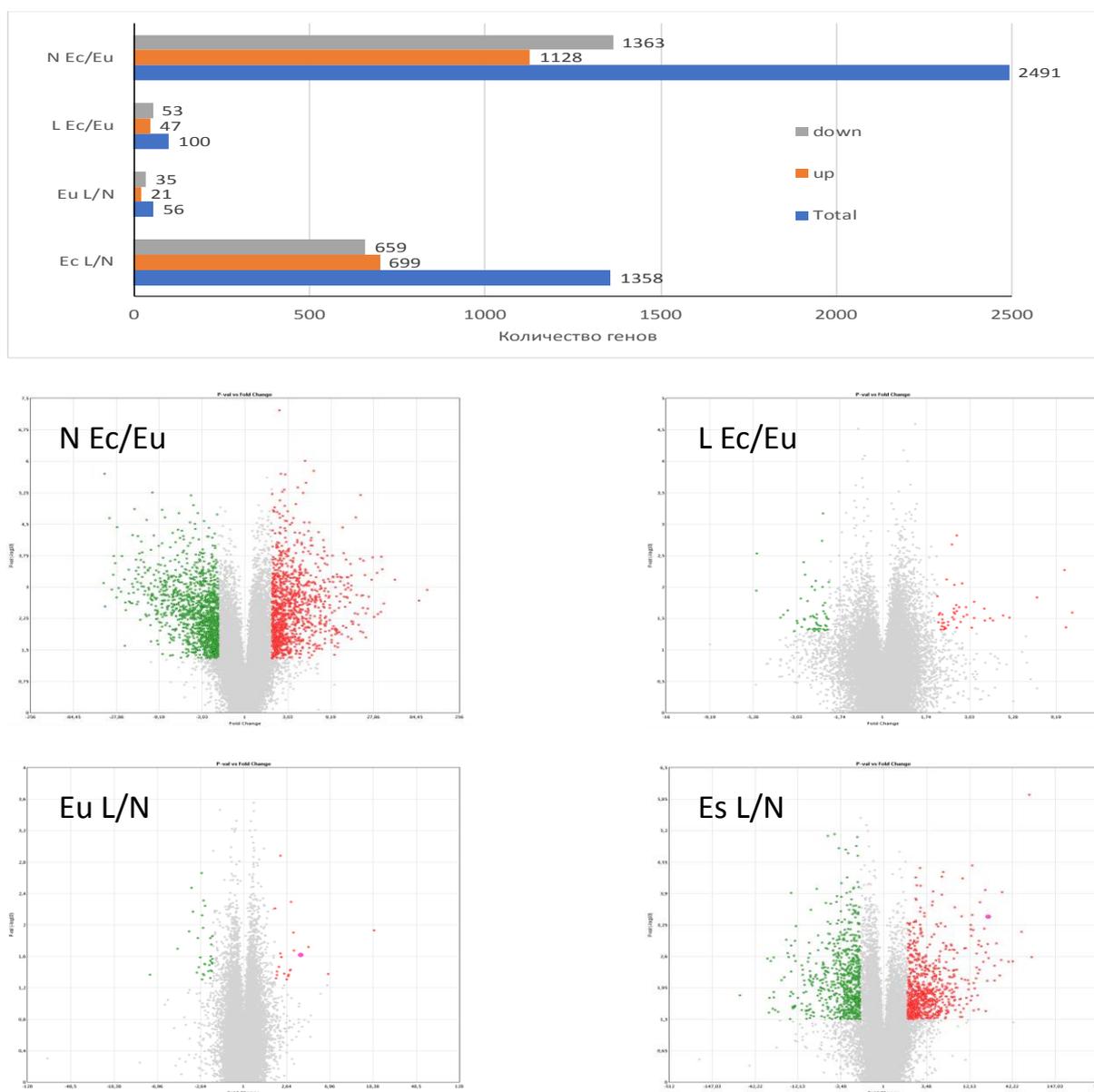


Рисунок 12 - Транскриптомный анализ экспрессии генов в тканях эндометрия. N – нормальный резерв; L – низкий резерв; Ec – эктопический эндометрий; Eu – эутопический эндометрий.

При помощи биоинформационного анализа (с использованием обогащения путей и процессов по базе данных Wikipathways) продемонстрировано, что

изменение уровня экспрессии мкРНК и мРНК в эутопическом и эктопическом эндометрии может приводить к дисбалансу внутриклеточных каскадов и способствовать развитию эндометриоза. Установлено, что совпадающие гены, идентифицированные в парах сравнения Ес/Ес при низком и нормальном овариальном резерве, входят в состав 10 путей, задействованных в опухолевом процессе, и 4 путей, участвующих в регуляции клеточного цикла. Также обращает на себя внимание обогащение по путям, связанным с повреждением и репарацией ДНК (7 путей). Можно предположить, что увеличение повреждения ДНК ооцитов и эмбрионов приводит к увеличению числа выкидышей, к неудачам при оплодотворении и имплантации у пациентов с эндометриозом. Факторы, приводящие к повреждению ДНК в клетках кисты, могут воздействовать на близлежащие ткани яичника, приводя к нарушению регуляции клеточного цикла в клетках фолликула, а также последующему снижению овариального резерва и бесплодию.

Исходя из полученных данных по экспрессии микроРНК и мРНК, а также по ассоциированным с ними путям внутриклеточной сигнализации можно предложить схему патогенетических процессов, протекающих в тканях эктопического эндометрия и приводящих к снижению овариального резерва при эндометриозидных кистах яичника (Рисунок 13).

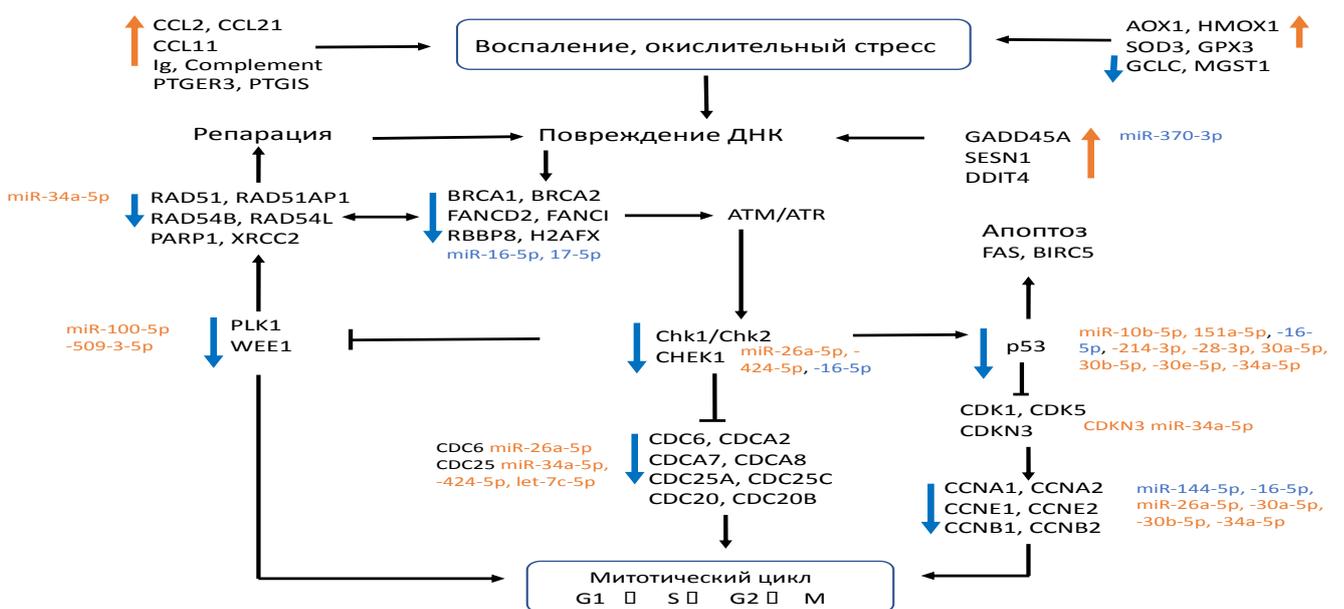


Рисунок 13. Роль микроРНК и мРНК дифференциально экспрессированных в тканях эктопического эндометрия в регуляции клеточного цикла при повреждении ДНК.

Из представленной схемы следует, что в основе снижения овариального резерва может лежать генотоксическое действие патогенетических факторов со стороны развивающейся кисты. Для большинства приведенных на схеме генов, по данным биоинформационного анализа были выявлены мкРНК способные регулировать их экспрессию. Полученные результаты свидетельствуют о важном вкладе мкРНК в патогенез эндометриоза и сопутствующих ему осложнений, связанных с бесплодием.

ВЫВОДЫ

1. У женщин репродуктивного возраста с ЭКЯ снижение овариального резерва отмечается в 36% случаев до оперативного лечения и в 49% случаев после операции. При исходном уровне АМГ в среднем $2,92 \pm 1,80$ нг/мл следует ожидать наиболее выраженное снижение овариального резерва в послеоперационном периоде ($p = 0,00012$).
2. Низкий овариальный резерв у женщин репродуктивного возраста с ЭКЯ до оперативного лечения ассоциируется с возрастом старше 30 лет, наличием в анамнезе оперативных вмешательств на яичниках, рецидивом ЭКЯ, большим размером ЭКЯ (средний размер $7,87 \pm 4,70$ см), двусторонним поражением яичников эндометриоидными кистами и III – IV степенью распространения эндометриоза ($p < 0,05$). Факторами, ассоциированными со снижением ОР в послеоперационном периоде, являются: двусторонняя резекция яичников ($p = 0,00001$), диаметр кист более 4-х см ($p = 0,0028$), III – IV степень распространения эндометриоза ($p = 0,0015$), исходно низкое количество антральных фолликулов ($p = 0,026$).
3. Одной из основных жалоб среди пациенток с ЭКЯ является бесплодие (39%). Длительность бесплодия более 5 лет достоверно чаще встречается в группе женщин с исходно низким ОР ($p = 0,01$). После операции в группе женщин с исходно нормальным ОР беременность наступает в 46,1% случаев, в группе с исходно низким ОР в 17,9% случаев ($p = 0,004$). Самостоятельная беременность отмечена в 32,9% случаев в I группе и в 5,1% случаев во II группе ($p = 0,00085$).

При помощи ВРТ беременность наступала у 10 женщин (13,2%) в I группе и 5 женщин (12,8%) во II группе, $p = 0,960$. В 47% случаев попытки ВРТ были неудачными, в связи с отсутствием адекватного ответа яичников на гормональную стимуляцию, отсутствием дробления эмбриона *in vitro*, остановкой развития эмбриона после переноса в полость матки.

4. При низком овариальном резерве на фоне нарушения гормональной функции яичника происходит значительное снижение как количества дифференциально экспрессируемых мкРНК, так и количества дифференциально экспрессируемых генов в тканях ЭКЯ относительно эутопического эндометрия. Полученные данные о малом количестве экспрессированных мкРНК и их генов-мишеней в тканях ЭКЯ группы низкого ОР ассоциированы с более старшим возрастом пациенток данной группы, двусторонним поражением яичников эндометриоидными кистами, III – IV стадией распространения эндометриоза, рецидивом ЭКЯ.
5. При помощи биоинформационного анализа установлено, что гены-мишени микроРНК и дифференциально экспрессируемые гены участвуют во внутриклеточных путях, регулирующих процессы воспаления, окислительного стресса, клеточного деления, тканевого ремоделинга, миграции и инвазии, лежащих в основе развития эндометриоидных гетеротопий.
6. Снижение овариального резерва при ЭКЯ на этапе до хирургического лечения обусловлено генотоксическим воздействием эндометриоидной кисты на яичник, о чем свидетельствует как повышение экспрессии генов, участвующих в процессах воспаления и окислительного стресса, так и снижение экспрессии специфических генов, ответственных за репарацию ДНК и регуляцию клеточного цикла. Нарушение указанных процессов может объяснять неудачные попытки ЭКО у пациентов с ЭКЯ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Необходимо проводить оценку ОР (уровень АМГ, ФСГ, количество антральных фолликулов) всем пациенткам репродуктивного возраста с ЭКЯ на этапе до хирургического лечения. Комплексная оценка ОР у женщин репродуктивного

возраста с эндометриоидными кистами яичников до операции и прогнозирование снижения овариального резерва в послеоперационном периоде дает возможность определить объем оперативного лечения и установить тактику ведения данных пациенток в послеоперационном периоде.

2. При проведении оперативного лечения по поводу ЭКЯ необходимо максимально бережно удалять капсулу эндометриоидной кисты, сохраняя здоровую ткань яичника и фолликулярный аппарат. С целью минимизации коагуляционной травмы ткани яичника во время гемостаза биполярную электрокоагуляцию следует начинать с более низкой мощности используя при этом обильное орошение и охлаждение ткани яичника физиологическим раствором. Время экспозиции биполярной энергии должно быть максимально коротким.
3. После операции по поводу ЭКЯ всем пациенткам необходимо оценивать состояние ОР через 3 и 6 месяцев. Состояние овариального резерва до операции, объем эндометриоидных кист и двустороннее поражение яичников, установленные интраоперационно, а также объем выполненного оперативного лечения, позволяют прогнозировать риски снижения овариального резерва в послеоперационном периоде у женщин репродуктивного возраста
4. Женщины репродуктивного возраста с исходно низким ОР, наличием бесплодия в анамнезе, а также те пациентки, у которых были выявлены предикторы снижения ОР в послеоперационном периоде желающие реализовать репродуктивную функцию должны быть до операции консультированы репродуктологами с целью решения вопроса о необходимости использования различных методов сохранения фертильности.
5. Основываясь на полученных данных по изменению уровня экспрессии (повышение) hsa-miR-1-3p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-202-5p в тканях эутопического эндометрия при низком овариальном резерве можно предложить определение экспрессии данных микроРНК в качестве теста оценки состояния овариального резерва.
6. Был проведен биоинформационный анализ, выявлены гены – потенциальные мишени дэ-мкРНК. Их продукты можно рассматривать в качестве мишеней для

таргетной терапии. Изменение экспрессии мкРНК при низком и норм ОВР вносит значительный вклад в экспрессию генов, определяющих патогенетические механизмы развития бесплодия у больных эндометриозом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Современный взгляд на овариальный резерв у женщин репродуктивного возраста с эндометриодными кистами яичников (обзор литературы) / **Е.С. Филиппова**, И.Ф. Козаченко, А.Г. Быков, М.Ю. Бобров, Л.В. Адамян // Проблемы репродукции. - 2017.- № 2.- С.72-80.
2. Использование транскриптомных баз данных для анализа патогенетических факторов эндометриоза / М.Ю. Бобров, И.С. Балашов, **Е.С. Филиппова**, И.К. Альмова, Е.Г. Хилькевич, С.В. Павлович, В.А. Наумов, П.И. Боровиков, Г.Т. Сухих // Акушерство и гинекология. -2017.№4. -С.34-44.
3. Оценка экспрессии микроРНК в очагах ретроцервикального эндометриоза / М.Ю. Бобров, И.С. Балашов, **Е.С. Филиппова**, И.К. Альмова, А.В. Тимофеева, В.А. Гусар, П.И. Боровиков, Е.Г. Хилькевич, В.Д. Чупрынин, С.В. Павлович // Акушерство и гинекология. -2018.№6. -С.55-62.
4. Влияние хирургического лечения эндометриодных кист яичников на состояние овариального резерва у женщин репродуктивного возраста / **Е.С. Филиппова**, И.Ф. Козаченко, Л.В. Адамян, В.О. Дементьева // Проблемы репродукции. - 2018.- № 4.- С.71-80.
5. Профилирование микроРНК и мРНК в тканях эутопического и эктопического эндометрия при эндометриодных кистах яичников / **Е.С. Филиппова**, Н.А. Межлумова, А.М. Гамисония, Ч.М. Эльдаров, М.В. Кузнецова, Д.Ю. Трофимов, С.В. Павлович, И.Ф. Козаченко, М.Ю. Бобров, Л.В. Адамян // Проблемы репродукции. - 2019.- № 2.- С.27-45.
6. Состояние овариального резерва у женщин репродуктивного возраста с эндометриодными кистами яичников / **Е.С. Филиппова**, Л.В. Адамян, И.Ф. Козаченко // XI Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 2017). С.47-48.

7. Влияние хирургического лечения эндометриoidных кист яичников на состояние овариального резерва у женщин репродуктивного возраста / Л.В. Адамян, И.Ф. Козаченко, **Е.С. Филиппова**, Я.Б. Азнаурова // XXX Юбилейный международный конгресс с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2017). -С.243-245.
8. Овариальный резерв и эндометриоз: персонифицированный подход к тактике ведения / **Е.С. Филиппова**, И.Ф. Козаченко, М.Ю. Бобров, Л.В. Адамян // XII Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 2018). С.554-555.
9. Влияние хирургического лечения эндометриoidных кист яичников на состояние овариального резерва у женщин репродуктивного возраста / **Е.С. Филиппова**, И.Ф. Козаченко, М.Ю. Бобров, Л.В. Адамян // XXXI Международный конгресс с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2017). - С.160-161.
10. Клинико – лабораторные показатели овариального резерва и патогенетические механизмы его снижения при эндометриoidных кистах яичника у женщин репродуктивного возраста / **Е.С. Филиппова**, И.Ф. Козаченко, М.Ю. Бобров, Л.В. Адамян // XIII Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 2019). С.138-139.

ПРИЛОЖЕНИЕ А Тактика ведения женщин репродуктивного возраста с ЭКЯ

