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

*На правах рукописи*

МЕЛКУМЯН
Арика Гагиковна

# ГЛУБОКИЙ ИНФИЛЬТРАТИВНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ: ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ

3.1.4. – Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

кандидат медицинских наук, доцент
Павлович Станислав Владиславович

доктор медицинских наук
Кречетова Любовь Валентиновна

Москва 2022

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение…….. 4
Глава1. Наружный генитальный эндометриоз: роль иммунологических изменений в патогенезе, возможности диагностики и терапии…… 11
1.1.Современные представления об этиопатогенезе наружного генитального эндометриоза…… 11
1.2.Роль иммунных факторов при наружном генитальном эндометриозе…… 14
1.3. Аутоиммунные нарушения при эндометриозе. Роль аутоантител в патогенезе наружного генитального эндометриоза……. 35
Глава 2. Материал и методы исследования……... 41
2.1. Общая характеристика пациенток…….. 41
2.2. Методы обследования…….. 43
Глава 3. Результаты собственных исследований…….. 52
3.1. Клиническая характеристика пациенток с наружным генитальным эндометриозом…… 52
3.2. Результаты исследования аутоиммунных маркеров для неинвазивной диагностики распространенных форм наружного генитального эндометриоза…… 60
3.3. Характеристика профиля секретируемых белков клетками из эндометриоидных очагов и эутопического эндометрия женщин с наружным генитальным эндометриозом……. 73
Глава 4. Обсуждение полученных результатов…….. 82
ВЫВОДЫ……. 91
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ……. 93
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ ……. 94
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ…….. 96

ПРИЛОЖЕНИЕ ……. 109

# ВВЕДЕНИЕ

## Актуальность темы диссертационного исследования

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) – это хроническое, гормон-зависимое, многофакторное заболевание, характеризующееся наличием и функциональной активностью гетеротопических очагов вне полости матки, по биологическим свойствам подобной эутопическому эндометрию. Патофизиология эндометриоза (Э), несмотря на значительное число исследований, до конца не изучена [67, 69, 148]. Распространенность Э. варьирует от нескольких до более, чем у 10% женщин репродуктивного возраста, возрастая до уровня более чем 20% у женщин при синдроме тазовой боли и до 50% при женском бесплодии [1, 65]. Высокий уровень популяционной заболеваемости, значительное число осложнений, в том числе бесплодия, обуславливают медицинскую и социальную значимость данного заболевания. Глубокий инфильтративный эндометриоз (ГИЭ) является особой формой заболеввания, с характериной выраженной тяжестью симптомов и дисфункцией соседних органов.

В исследованиях, проведенных в последние годы, значительное место занимает изучение роли иммунных факторов в формировании эндометриоидных очагов, их функционирования, распространения заболевания, а также взаимосвязей иммунных нарушений и клинических проявлений заболевания при разных формах и стадиях Э. Большое внимание уделяется микроокружению эндометриоидных гетеротопий, продуцирующих цитокины, хемокины и факторы роста, в том числе ангиогенные, оказывающие разнообразное влияние на патобиологию заболевания, а также на разнообразные свойства перитонеальной жидкости [121]. Перечисленные факторы способствуют развитию хронического субклинического воспаления, неоангиогенезу, разрастанию ткани, прорастанию нервных волокон в эндометриоидные очаги и другим гиперпролиферативным процессам,

способствующим длительному автономному функционированию и развитию заболевания [4, 27].

Эндометриоз ассоциируется с повышенным образованием аутоантител и имеет сходство с аутоиммунными заболеваниями [27]. Степень формирования аутоиммунных нарушений закономерно возрастает с тяжестью течения и наиболее выражена при распространенных формах заболевания [64].

## Цель исследования

Совершенствование комплексной диагностики глубокого инфильтративного эндометриоза на основании изучения аутоиммунных маркеров и определение роли иммунных факторов в патогенезе заболевания.

## Задачи исследования

1. Изучить клинико-анамнестические и лабораторные параметры при распространенных формах наружного генитального эндометриоза.
2. Изучить профиль аутоантител у женщин с глубоким инфильтративным эндометриозом.
3. Определить диагностическое значение аутоантител при разных формах распространенного наружного генитального эндометриоза.
4. Провести сравнительный анализ профиля секретируемых белков в эктопическом и эутопическом эндометрии у женщин с глубоким инфильтративным эндометриозом.
5. Усовершенствовать алгоритм комплексной диагностики глубокого инфильтративного эндометриоза с учетом роли выявленных в исследовании аутоиммунных антител.

## Научная новизна

Проведено изучение клинико-анамнестических данных и лабораторных параметров, в том числе аутоиммунных антител у пациентов с глубоким инфильтративным эндометриозом. Охарактеризован спектр аутоантител в сыворотке крови при глубоком инфильтративном эндометриозе. Установлено, что частота выявления различных антител класса G и M к эстрадиолу, тропомиозину 3 и хорионическому гонадотропину человека и их уровни характеризуется существенными изменениями при эндометриозе. Определена диагностическая значимость отдельных аутоантител и их сочетания при распространенных формах эндометриоза с поражением и без поражения яичника.

Впервые охарактеризован спектр белков в супернатантах клеток эктопического и эутопического эндометрия у пациентов при распространенных формах наружного генитального эндометриоза.

Установлены существенные различия в продукции цитокинов, хемокинов и факторов роста между эктопическим и эутопическим эндометрием при эндометриозе и эутопическим эндометрием у здоровых женщин.

## Теоретическая и практическая значимость работы

Установлена значимость аутоиммунных параметров в диагностике глубокого инфильтративного эндометриоза.

Выявлен широкий спектр аутоантител разной специфичности у пациенток с наружным генитальным эндометриозом. Показано, что профиль антител у пациенток с распространенными формами наружного генитального эндометриоза характеризуется как более высокой частотой выявления, так и более высокими уровнями IgM-антител к прогестерону, эстрадиолу и хорионическому гонадотропину человека, чем у женщин без эндометриоза.

Показаны различия в диагностической значимости ряда аутоимунных маркеров при распространенных формах НГЭ с поражением и без поражения яичника, которые могут быть использованы в комплексной диагностике разных форм заболевания.

Установлены антитела, характеризующиеся высоким уровнем диагностической значимости для включения в панель биомаркеров для неинвазивной диагностики глубокого инфильтративного эндометриоза.

## Основные положения, выносимые на защиту

1. Глубокий инфильтративный эндометриоз характеризуется длительностью течения, поздним установлением диагноза заболевания и высокой частотой рецидивирования. Клинические проявления заболевания характеризуются неспецифичностью симптомов. Наиболее значимыми клиническими проявлениями распространенных форм наружного генитального эндометриоза являются: хроническая тазовая боль, диспареуния, бесплодие, аномальные маточные кровотечения.

2. Распространенные формы наружного генитального эндометриоза характеризуются повышенной выработкой аутоантител к эндометриальным антигенам, стероидным гормонам и хорионическому гонадотропину человека. У пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом отмечается как более высокая частота выявления, так и более высокий уровень IgM-антител к прогестерону, эстрадиолу и хорионическому гонадотропину человека, чем у женщин без эндометриоза. Высокую диагностическую значимость имеют IgM-антитела к тропомиозину, хорионическому гонадотропину человека и эстрадиолу, которая существенно повышается при определении комбинации этих антител.

3. Наружный генитальный эндометриоз характеризуется повышением активации клеток из эктопических очагов, продуцирующих цитокины различной функциональной направленности, хемокины и факторы роста,

опосредующие различные аспекты клеточных взаимодействий, способствующие воспалительному процессу, ангиогенезу и пролиферации клеток. В эутопическом эндометрии при эндометриозе имеет место избирательное увеличение выработки фактора некроза опухоли-α и интерлейкина-4, что указывает на преимущественную активацию гуморального звена иммунной системы и согласуется с полученными результатами повышенной продукции различных типов аутоантител.

**Методология и методы исследования.**

Работа выполнена на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» (далее – Центр) Минздрава России (директор – академик РАН, д.м.н., проф. Г.Т. Сухих). Клиническая часть работы выполнена в хирургическом отделении отдела оперативной гинекологии и общей хирургии Центра (заведующий – к.м.н. В.Д. Чупрынин). Иммунологические исследования выполнялись на базе лаборатории клинической иммунологии Центра (заведующий – д.м.н. Кречетова Л.В.). В исследование включено 130 женщин, обратившихся в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России в период 2014-2019 гг. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено экспертной комиссией по этике биомедицинских исследований ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Использованы клинические, инструментальные, лабораторные, аналитические и статистические методы исследования. Специальные методы включали: иммуноферментный анализ, проточную цитофлуориметрию, мультиплексный анализ.

**Личный вклад автора в проведенное исследование**

Автор проявил инициативу в выборе темы диссертационной работы, формулировке цели и обоснования задач исследования, формирования дизайна исследования. Автором самостоятельно проведен аналитический

обзор отечественной и иностранной англоязычной литературы, обсуждение и разработка программы и методов исследования, осуществлен сбор материала, формирование компьютерной базы данных, анализ, обработка полученных данных, статистический анализ и интерпретация полученных результатов научного исследования. Сформулированы основные положения, выносимые на защиту, научная новизна и практические рекомендации. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном выполнении каждого из этапов научного исследования.

## Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы. Работа представлена на 109 страницах. Библиографический указатель включает 159 работ цитируемых авторов, в том числе 27 - на русском и 130 - на иностранных языках.

## Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 3 и 4 области исследований паспорта специальности «акушерство и гинекология».

## Степень достоверности и апробация результатов

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

Работа обсуждена на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава России 21.02.2022.

## Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 4 - в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

# ГЛАВА 1. НАРУЖНЫЙ ГЕНИТАЛЬНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ: РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ, ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ

## 1.1. Современные представления об этиопатогенезе эндометриоза

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) – это хроническое, гормон-зависимое, многофакторное заболевание, характеризующееся наличием и функциональной активностью гетеротопических очагов вне полости матки, по биологическим свойствам подобной эутопическому эндометрию [102]. НГЭ - хроническое воспалительное, гормон-зависимое гинекологическое заболевание, патофизиология которого до конца не изучена [1,2]. Распространённость данного заболевания варьируется от 2 до 11% у женщин без выраженной симптоматики, от 5 до 50% при бесплодии, от 5 до 21% у женщин с выраженным синдромом тазовой боли [32, 72, 79, 116, 158]. У подростков НГЭ выявляется у 49% при наличии выраженной симптоматики хронической тазовой боли и у 79% пациентов с некупируемым болевым синдромом. Доказано, что данный патологический процесс формируется на фоне нарушения гормонального и иммунологического гомеостаза. Несмотря на многолетние исследования, эндометриоз по своим клиническим проявлениям, остается одним из многофакторных заболеваний, которое снижает качество жизни женщин как репродуктивного возраста, так и других возрастных категорий, вне зависимости от генетической предрасположенности, образа жизни, среды обитания и соматического здоровья [1, 10, 13]. Указанные факторы определяют НГЭ как одно из наиболее социально и демографически значимых гинекологических заболеваний, требующих мультидисциплинарного подхода к его изучению [71].

Одна из основных теорий патогенеза эндометриоза - ретроградная менструация, т.е. распространение клеток эндометрия по маточным трубам, впервые описанная Sampson (1927) [76, 115, 126, 154]. Имеется множество

других теорий этиопатогенеза заболевания, таких как: метапластическая, эмбриональная, дисгормональная, дизонтогенетическая, теория нарушения иммунного баланса [1] и диссеминационная (из полости матки по кровеносным или лимфатическим сосудам). Наиболее значимыми патогенетическими процессами в развитии эндометриоза считают: снижение апоптоза, повышенную клеточную выживаемость и клеточную пролиферативную активность, нарушения ангиогенеза и нейрогенеза, повреждение мезотелия, приобретение инвазивных и адгезивных способностей, потерю баланса оксидативного стресса. Значимая роль в этих процессах принадлежит дисрегуляции воспалительного ответа, характеризующейся, в частности, изменением количественных и качественных характеристик ряда цитокинов и факторов роста, повышением уровня аутоантител. Также в литературе активно обсуждается немаловажная роль в развитии заболевания стволовых клеток, мутаций на генетическом уровне и эпигенетических факторов, в том числе и факторов внешней среды [70]. Основными версиями в этиопатогенезе заболевания остаются воспалительные изменения, гиперэстрогенемия, резистентность к прогестерону, индукция неоангиогенеза, являющаяся причиной инфильтративного роста, инвазии в окружающие ткани, с последующей их деструкцией и распространением патологического процесса [37].

Значимое число проведенных исследований базируются на имплантационной теории. Признаки ретроградной менструации имеются у большинства женщин репродуктивного возраста. Клетки эндометрия, достигнув брюшной полости, в норме элиминируются за счет разных механизмов, тем самым исключается процесс их имплантации. Эутопический эндометрий, перитонеальная жидкость, брюшина могут существенным образом менять характеристики целого ряда клеточных компонентов (в частности, клеток иммунной системы и эндометрия), которые продуцируют факторы роста, ангиогенные факторы и цитокины [121].

Развитию эндометриоза могут способствовать нарушения в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета, что приводит к влиянию на клиренс клеток эндометриального происхождения и упрощению их проникновения и функционирования в брюшной полости [54]. Деградация внеклеточного матрикса, (чему способствуют нарушения функционирования матриксных металлопротеиназ (ММП), среди которых при эндометриозе отмечается увеличение уровней ММП-2, ММП-3, ММП-7 и ММП-9 и белков системы активаторов плазминогена) способствует процессам имплантации клеток эндометриального происхождения вне мест их нормальной локализации, а также их дальнейшей пролиферации [61].

Эндометриоидные очаги состоят из совокупности эпителиальных, в том числе эндотелиальных и железистых, а также стромальных, и иммунных клеток, которые гетерогенны по своей природе и характеризуются измененным воспалительным профилем по сравнению с эутопическим эндометрием [61]. В процессе имплантации и формирования эндометриоидного очага принимает участие большое число иммунных клеток, развивается интенсивное воспаление. В эндометриоидных гетеротопиях была также выявлена повышенная экспрессия генов, характеризующих продукцию цитокинов и молекул клеточной адгезии [83]. Имеется большое число данных об активации механизма мобилизации фибробластов и разрастания соединительной ткани [60], а также об изменениях в системе комплемента [53].

На развитие НГЭ могут оказывать влияние также эндокринные, иммунологические, провоспалительные и проангиогенные процессы. Точную причинно-следственную связь установить достаточно сложно, так как от появления первых гетеротопий до первых симптомов могут пройти годы.

При тяжелом течении заболевания чаще встречается сочетанная форма локализаций, что значительно усложняет диагностику, лечение, искажает клиническую картину и снижает качество жизни женщины. Однако эктопически расположенные (вне полости матки) эндометриоидные очаги

только подобны ткани эндометрия здоровых женщин, так как характерные для них молекулярно-генетические дефекты способствуют их выживанию и инфильтративному росту с проникновением в окружающие ткани, а отсутствие вокруг очага соединительнотканной капсулы и тенденция к разрастанию и распространению сближает это заболевание с опухолевыми процессами. Одним из важных клинически-значимых отличий эндометриоза от злокачественных опухолей является отсутствие выраженной клеточной атипии и зависимость клинических проявлений от менструальной функции, несмотря на большую степень автономии, способность к инфильтративному росту, тенденцию к рецидивированию и инвазии [10].

Таким образом, эндометриоз относят к долговременным, прогрессирующим и рецидивирующим процессам.

Исследование механизмов патогенеза и поиск диагностических маркеров НГЭ необходимы для разработки ранней неинвазивной диагностики и патогенетической терапии данного заболевания.

## 1.2 Роль иммунных факторов при наружном генитальном эндометриозе

Иммунная система в патогенезе НГЭ играет одну из ключевых ролей [7, 9, 14, 21]. При данном заболевании в организме женщины повышается концентрация активных макрофагов, снижается клеточный иммунитет и подавляются функции естественных киллеров (ЕК). Эктопические клетки эндометрия, обнаруженные в брюшине, вызывают воспалительную реакцию, обусловленную локальной активацией перитонеальных макрофагов и лейкоцитов. Подобная воспалительная реакция может быть избыточной, с одной стороны, и потому иметь пагубное влияние, приводящее к нарушению в распознавании «своего» и «не своего» и даже к активации эктопических клеток эндометрия, которые начинают распространяться в эктопических участках, подавляя реакцию со стороны локальных иммунных надзорных

клеток. И с этой стороны, нарушения иммунного гомеостаза проявляются в снижении реакций клеточной цитотоксичности в отношении клеток аутологичного эндометрия, находящегося вне «своей» ткани, а также в развитии аутоиммунных реакций. Как известно, для НГЭ характерно развитие локального воспалительного процесса с системной субклинической манифестацией. Аберрантный иммунный ответ в перитонеальной жидкости также играет немаловажную роль на этапе развития и распространения гетеротопий наружного генитального эндометриоза.

**Факторы врожденного иммунитета**

Среди факторов врожденного иммунитета, участвующих в патогенезе НГЭ, большое значение придается нейтрофилам, макрофагам, естественным киллерам (ЕК) и дендритным клеткам (ДК), а также системе комплемента [146].

***Нейтрофилы***

Нейтрофилы принимают участие в активации воспалительных процессов, в мобилизации и дифференцировке макрофагов, ангиогенезе, а также инфильтрации места локализации опухолей. Механизм их действия реализуется за счет продукции окислительных радикалов, высвобождения гранул либо образования нейтрофильных внеклеточных ловушек [40].

В перитонеальной жидкости пациенток с НГЭ наблюдется инфильтрация нейтрофилами [88]. Это, вероятно, является результатом повышенных концентраций сильнодействующих хемоаттрактантов нейтрофилов, таких как ИЛ-8, присутствующих в плазме и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом [93].

При НГЭ и в периферической крови, и в перитонеальной жидкости обнаружено снижение скорости апоптоза нейтрофилов. Установлено наличие антиапоптотических факторов в плазме крови и перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом, а также обнаружена устойчивость нейтрофилов к

спонтанному апоптозу [97]. Это может служить одной из основных причин формирования хронического воспалительного процесса в брюшной полости.

На мышиной модели было показано достижение пика нейтрофильной инфильтрации на ранних этапах развития эндометриоза с последующим снижением, что позволило предположить важность роли нейтрофилов на ранних стадиях развития заболевания [104]. Кроме того, было показано, что раннее истощение нейтрофилов у мышей с использованием антител против рецептора гранулоцитов-1 (Gr-1) приводило к уменьшению образования эндометриоидных поражений [103]. При этом одни и те же антитела против Gr-1 снижали как уровень нейтрофилов крови, так и уровень $Gr\text{-}1^{+}$-моноцитов [156]. Таким образом, наблюдаемый эффект уменьшения образования эндометриоидных поражений не может быть связан исключительно с нейтрофилами.

***Макрофаги***

В месте воспаления, путем выделения хемокинов, происходит рекрутирование нейтрофилов макрофагами и тучными клетками. Данные клеточные популяции увеличиваются при эндометриозе и влияют как на рекрутинг, так и на функцию нейтрофилов [97].

В перитонеальной жидкости макрофаги являются наиболее распространенным типом иммунных клеток, а при эндометриозе их количество и активность увеличиваются так же, как и вырабатываемых ими цитокинов [95].

Активированные макрофаги регулируют состав перитонеальной среды посредством фагоцитоза, удаляя эритроциты, фрагменты поврежденной ткани, продукты клеточного распада [95] или продуцируя растворимые медиаторы, такие как цитокины, простагландины, компоненты комплемента и ферменты. Посредством секреции этих иммунных медиаторов макрофаги могут способствовать развитию воспаления, репарации тканей, неоваскуляризации, а также мобилизации фибробластов и эндотелиальных клеток [101]. Цитокины, продуцируемые макрофагами, модулируют

активность других иммунных клеток: Т- и В-лимфоцитов, ЕК. Например, в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом не обнаруживается секретируемый макрофагами ингибитор апоптоза 6 (Api6), который подавляет апоптоз Т-лимфоцитов и ЕК, а также ингибирует продукцию иммуноглобулинов [6].

Несмотря на повышенное количество и активность макрофагов, их фагоцитарная активность при эндометриозе снижается [95], они не способны элиминировать эктопические клетки эндометрия, которые достигают полости в результате ретроградной менструации [26]. Доказано, что у пациенток с эндометриозом, вне зависимости от стадии патологического процесса, перитонеальные макрофаги экспрессируют меньшее число скавенджер-рецепторов CD204 и CD36, и их экспрессия не увеличивается в ответ на стимуляцию макрофагов клетками аутологичного эндометрия [26]. Фагоцитоз также регулируется посредством активации матриксных металлопротеиназ. Как снижение экспрессии скавенджер-рецепторов, так и активность матриксных металлопротеиназ подавляются простагландином Е2, который сверхэкспрессируется у пациенток с эндометриозом [140]. Помимо снижения фагоцитарной способности макрофагов, на выживаемость регургитированных в брюшную полость клеток эндометрия влияет тот факт, что их количество может значительно превышать элиминационную способность макрофагов [109].

В настоящее время макрофаги принято делить на две основные группы с разными функциями [100]: макрофаги М1, которые продуцируют большое количество воспалительных цитокинов и специализируются на устранении микроорганизмов и дефектных клеток, и М2 макрофаги, которые модулируют адаптивный иммунный ответ, способствуют ангиогенезу, восстановлению тканей и удаляют продукты клеточного распада. По некоторым данным, в брюшине и очагах поражения значительно преобладают макрофаги М2 $CD163^{+}/CD206^{+}$ [35, 97]. Эксперименты с уменьшением числа макрофагов дополнительно продемонстрировали ключевую роль макрофагов М2 в

имплантации, развитии и персистировании эндометриоза [35, 112]. Кроме того, выборочный адоптивный перенос макрофагов М2 показал, что они способствуют прогрессированию эндометриоза [35]. Однако, F. Itoh и соавт. сообщают об отсутствии различий в количестве перитонеальных макрофагов М2 у пациенток с эндометриозом и у пациенток из контрольной группы [114]. Есть также и другое исследование, показавшее, что в эутопическом эндометрии пациенток с эндометриозом по сравнению со здоровым контролем преобладают М1 макрофаги [139].

Исследователями предлагается классификация макрофагов по морфологии с разделением их на большие перитонеальные макрофаги и малые перитонеальные макрофаги. В исследовании на мышиной модели [119] был выявлен их дисбаланс при НГЭ: увеличение доли малых и противоположная тенденция для больших макрофагов.

Популяция макрофагов существенно возрастает в перитонеальной жидкости и эутопическом эндометрии у пациентов с эндометриозом [37]. Была отмечена способность макрофагов к проникновению в эндометриоидные поражения [97]. Макрофаги играют важную роль в прогрессировании эндометриоидных поражений и воспалении. У пациентов с эндометриозом они обладают пониженной фагоцитарной активностью, что вызвано снижением экспрессии рецептора скавенджера класса B CD 36, в отличии от макрофагов контрольной группы [118]. Макрофаги усиливают рост эндометриальных поражений, вследствие запуска механизма пролиферации клеток и инвазивности эндометриальных стволовых клеток. [114]. Данная взаимосвязь обуславливает образование болевого синдрома при эндометриозе.

***Естественные киллеры (ЕК)***

ЕК (большие гранулярные лимфоциты) - это лимфоциты врожденной иммунной системы, которые могут уничтожать множество различных типов клеток-мишеней и секретировать цитокины, которые участвуют в

формировании адаптивного иммунного ответа и в восстановлении целостности тканей. Важно, что ЕК обладают способностью уничтожать собственные трансформированные или инфицированные клетки без предварительной сенсибилизации [12].

Эктопические клетки эндометрия не являются мишенью ЕК и не удаляются ими в результате не совсем ясного механизма ускользания от системы иммунного надзора [120]. Снижение цитотоксической активности ЕК в отношении клеток эндометрия у женщин с эндометриозом, обратно коррелирующее со стадией заболевания, было впервые описано Oosterlynck D. и соавт. (1991) [102, 157]. Это явление более выражено в брюшной полости, но также наблюдается среди ЕК в периферической крови [159]. Несмотря на снижение функции ЕК при эндометриозе, механизмы этого подавления неясны.

ЕК имеют множество поверхностных активирующих (KAR) и ингибирующих (KIR) рецепторов, экспрессия которых нарушена у пациенток с эндометриозом. Сообщалось о повышенной экспрессии KIR на перитонеальных ЕК у женщин с эндометриозом, что может объяснить снижение их активности у этих пациенток [87]. Среди активирующих поверхностных рецепторов можно выделить два основных рецептора: EKG2D и CD16 (FcγRIIIa). Последний обладает способностью связывать и разрушать покрытые иммуноглобулином G (IgG) стрессовые клетки посредством антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. Кроме того, цитотоксическая активность ЕК может быть индуцирована цитокинами, такими как ИЛ-2 [121].

Gonzalez-Foruria I. и соавт. (2015) оценивали лиганды рецепторов EKG2D в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом [133]. Авторы продемонстрировали значительное увеличение числа растворенных лигандов EKG2D, что означает более низкую экспрессию этих лигандов на поверхности эктопических клеток эндометрия и, предположили, что с этим связано уклонение от распознавания ЕК. Помимо растворенных лигандов EKG2D в

перитонеальной жидкости были обнаружены повышенные концентрации белков A и B, связанных с цепями MHCI (MICA и MICB) и активирующего лектин-подобного рецептора ЕК C-типа. Примечательно, что повышенное выделение MICA и MICB также рассматривается как возможный механизм ускользания опухолей от иммунного надзора и подавления действия ЕК [124, 125].

Факторы, продуцируемые макрофагами, такие как простагландины и цитокины, также могут модулировать активность ЕК. Эта гипотеза подтверждается исследованиями, демонстрирующими подавление цитотоксической активности ЕК под действием сыворотки и перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом по сравнению с контролем [86].

В эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом обнаруживаются более высокие уровни растворимой формы молекулы межклеточной адгезии-1 (sICAM-1), чем у женщин без эндометриоза; а эктопические клетки эндометрия экспрессируют более высокие уровни sICAM-1 по сравнению с их эутопическим эндометрием. sICAM-1 модулирует цитотоксическую активность ЕК и $CD8^+$-клеток, конкурируя с ICAM-1 за связывание с функциональным антигеном-1 лейкоцитов (LFA-1). Связывание sICAM-1 с LFA-1 мешает лейкоцитам связывать ICAM-1 на поверхности клеток-мишеней, предотвращая активацию лейкоцитов и уничтожение аберрантных клеток эндометрия [74].

Было показано, что ЕК важны для взаимосвязи врожденного и адаптивного иммунитета и что они имеют разные подтипы. ЕК-Т-клетки составляют 15-20 % от всей субпопуляции ЕК и 3-5 % от всех лимфоцитов периферической крови. Они экспрессируют мембранный комплекс CD3 рецептора Т-клеток в дополнение к классической экспрессии CD16. Установлено, что ЕК участвуют в элиминации клеток, презентирующих аутоантигены и, следовательно, их пониженная активность при НГЭ может объяснить повышенную аутоиммунную реактивность [109].

При эндометриозе подавление ЕК-клеток происходит местной перитонеальной средой, проявляя аберрантную экспрессию активирующих и ингибирующих рецепторов на клеточной поверхности, в отличие от здоровых женщин [39, 86]. Нарушения ЕК-клеток при эндометриозе приводит к тому, что иммунные клетки не способны распознать эндометриоидные эктопии в брюшной полости. В результате проведенных исследований было доказано, что у женщин с эндометриозом ИЛ-6 и ТФР-β1 влияют на цитологическую активность ЕК-клеток, а именно, снижая их активность, в перитонеальной жидкости [39].

***Дендритные клетки (ДК)***

ДК - это антигенпрезентирующие клетки, основной функцией которых является презентация антигена наивным Т-лимфоцитам. На сегодняшний день в литературе мало информации о роли ДК в патогенезе НГЭ. Недавно было подтверждено, что перитонеальная жидкость у пациенток с НГЭ имеет повышенное содержание $BDCA1^+$-миелоидных ДК, экспрессирующих рецептор маннозы, которые способны фагоцитировать мертвые остатки эндометриальных стромальных клеток, но при этом они могут вносить вклад в воспалительный ответ посредством секреции ИЛ-6 и ИЛ-1β [99]. Кроме того, Schulke L. и соавт. (2009) продемонстрировали, что в эутопическом и эктопическом эндометрии пациенток с эндометриозом изменены популяции $CD1a^+$ (незрелых) и $CD83^+$ (зрелых) ДК [57].

Доказательства участия ДК в патогенезе НГЭ in vivo противоречивы. Согласно Stanic A. и соавт. (2014), условное истощение ДК с помощью дифтерийного токсина на мышиной модели привело к увеличению размера эндометриоидного поражения и снижению экспрессии маркера активации Т-лимфоцитов CD69 [58]. Однако исследование Pencovich N. и соавт. (2014) демонстрирует противоположный результат [145].

***Система комплемента***

Система комплемента - еще один важный компонент в иммунопатогенезе НГЭ, участвующий в перитонеальном клиренсе и поддержании воспалительной реакции [147].

Недавно была продемонстрирована более высокая концентрация комплемента в перитонеальной жидкости у женщин с эндоментриозом, в частности компонентов C3 и C4b [6]. Более того, концентрация компонентов комплемента была в большей степени повышена у женщин с ранней стадией заболевания по сравнению с поздними стадиями. Результаты показали также более высокие уровни C1q, обладающего способностью модулировать функции иммунных и неиммунных клеток и маннозо-связывающего лектина (MBL), способного активировать комплемент в ассоциации с сериновыми протеазами (MASP) [30].

**Факторы адаптивного иммунитета**

Т- и В-лимфоциты являются основными компонентами адаптивного иммунитета и играют важную роль в выживании и пролиферации клеток эндометрия. НГЭ характеризуется сниженной активностью цитотоксических Т-лимфоцитов, модуляцией секреции цитокинов Т-хелперами (Th) и выработкой аутоантител В-лимфоцитами [95, 96].

***Т-лимфоциты***

Т-лимфоциты по их функциональной направленности подразделяются на $CD4^+$ (Th-клетки, с хелперной, вспомогательной активностью) и $CD8^+$ (с цитотоксической направленностью). $CD4^+$-Т-клетки подразделяют, в частности, на Th1, Th2 и Th17, которые секретируют различные цитокины и выполняют разные функции. Th1 способствуют дифференцировке Т-клеток в сторону цитотоксического эффекторного ответа, активируют моноциты и макрофаги. Th2 способствуют дифференцировке В-клеток в плазматические клетки, которые секретируют антитела. У пациенток с эндометриозом обнаружено смещение баланса Th1/Th2 в сторону Th2-клеток, вероятно,

вследствие сильной внутриклеточной экспрессии ИЛ-4 и отсутствия ИЛ-2 в лимфоцитах [95, 96]. $CD8^+$-Т-клетки могут активировать макрофаги и разрушать клетки, инфицированные вирусом или внутриклеточными патогенами [60]. Th17 синтезируют цитокины, привлекающие нейтрофилы и активирующие синтез защитных факторов в клетках эпителия. Таким образом Th17 вовлекают нейтрофилы и эпителиальные клетки в реакции адаптивного иммунитета. В настоящее время считается, что иммунный ответ, развивающийся по Th17-типу, наиболее важен на начальных этапах тканевого воспаления [11].

Исследования, в которых оценивали Т-лимфоциты у пациенток с эндометриозом, показали увеличение соотношения $CD4^+/CD8^+$-клеток и повышенную концентрацию каждой субпопуляции в перитонеальной жидкости, но с относительным снижением среди $CD4^+$-клеток количества Th1 [77]. В эндометриоидных очагах выявляется более высокая концентрация Т-лимфоцитов по сравнению с таковой в эутопическом эндометрии, но с аналогичным соотношением $CD4^+/CD8^+$ как в перитонеальной жидкости. В периферической крови изменений в соотношении указанных клеток не выявлено [60]. Было, однако, выявлено различие в субпопуляционном составе лимфоцитов в периферической крови женщин с внутренним и наружным генитальным эндометриозом. При наружном генитальном эндометриозе выявлено снижение числа $CD3^+CD4^+$-лимфоцитов (с хелперной функцией), а число ЕК-клеток ($CD16^+$) резко повышено; при внутреннем генитальном эндометриозе отмечено уменьшение количества цитотоксических Т-клеток ($CD3^+CD8^+$) и повышено содержание ЕК-клеток ($CD16^+$) [23]. Кроме того, для эндометриоидных поражений по сравнению с эутопическим эндометрием оказалось характерным наличие субпопуляции Th17 лимфоцитов, коррелирующее со стадией заболевания и повышенным уровнем ИЛ-10 и ИЛ-17 [89, 132, 143].

Другой важной субпопуляцией являются Т-регуляторные клетки (Т-рег) с фенотипом $CD4^+CD25^{high}CD127^{low/-}$ и с внутриклеточной экспрессией

транскрипционного фактора Foxp3$^{+}$. Они являются мощными супрессорами воспалительного иммунного ответа, регулируют пролиферацию и функциональную активность Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, дендритных и ЕК. Barros I. и соавт. (2017) [28] в своей работе приходят к выводу, что в перитонеальной жидкости и эндометриоидных очагах наблюдается более высокая концентрация Т-рег и/или маркеров их экспрессии по сравнению с контрольной группой. Однако нет единого мнения о концентрации Т-рег клеток в эутопическом эндометрии и периферической крови этих пациенток [18]. По некоторым данным, концентрация регуляторных Т-клеток в периферической крови снижена [50], по другим данным – не изменена [141], корреляция между уровнем Т-рег и стадией заболевания не обнаружена [143]. Было показано, что при эндометриозе повышается уровень цитокина CCL25, который продуцируется эндометриальными стромальными клетками и макрофагами [31]. В то же время, в мышиных моделях, лишенных регуляторных Т-клеток, наблюдалось усиление роста эндометриоидных очагов при повышенной активации макрофагов и увеличении количества эффекторных цитотоксических Т-клеток [73, 141].

***В-лимфоциты***

Несмотря на то, что, согласно большинству экспериментальных данных, при эндометриозе характерна супрессия иммунитета, некоторые компоненты иммунной системы активируются, примером чего служит поликлональная активация В-клеток [84]. В систематическом обзоре 22-х исследований о роли В-клеток в патогенезе эндометриоза, в большинстве исследований сообщается об увеличении присутствия или активации В-клеток у пациенток с эндометриозом, однако в 7 из 22 исследований различий в количестве В-клеток у пациенток с эндометриозом и в контрольной группе не было обнаружено [85].

Тем не менее установлено, что для эндометриоза характерна повышенная реактивность В-клеток, наличие депозитов IgG и компонентов

комплемента в эндометрии и снижение уровня комплемента в сыворотке, что свидетельствует об аутоиммунном ответе с потреблением комплемента комплексом антиген-антитело [22, 153]. В сыворотке крови женщин с эндометриозом выявлены антНГЭндометриальные антитела, продуцируемые В-клетками [135]. В исследовании Bohler H. и соавт. (2007) [66] было также выявлено увеличение уровня аутоантител у пациенток с эндометриозом, коррелирующее со стадией заболевания.

Среди антНГЭндометриальных антител были выделены антитела к эндометриальному трансферрину и к α2-HS-гликопротеину [44]. Эти антитела могут служить маркерами для ранней неинвазивной диагностики эндометриоза. В исследовании Inagaki J. и соавт. (2003) была также обнаружена значимая связь между антителами IgG к ламинину-1 и бесплодием пациенток с эндометриозом на стадии II или более [36].

В-лимфоциты вносят свой вклад в патогенез НГЭ, вырабатывая не только антНГЭндометриальные антитела, но еще и антифосфолипидные и антинуклеарные антитела, обычно наблюдаемые при аутоиммунных заболеваниях [91]. Эти изменения могут быть связаны со специфическими генетическими мутациями в генах, связанных с аутоиммунными заболеваниями [150].

Обнаружены общие генетические полиморфизмы, характерные как для эндометриоза, так и для аутоиммунных заболеваний, включающие области в генах FOXP3, FCRL3, NF-κB и BLyS [75].

Ген FCRL3 кодирует гликопротеин, принадлежащий к суперсемейству рецепторов иммуноглобулинов. Он играет роль в дифференцировке В-клеток в аутореактивные клетки посредством модуляции тирозин-киназных путей передачи сигналов [51]. Было обнаружено, что аллель FCRL3-169C коррелирует с повышенной продукцией аутоантител [C.J. Owen, 2007]. По данным Bianco B. и соавт. (2011), FCRL3-169C/T значительно связан с риском эндометриоза независимо от стадии заболевания [42].

NF-κB, основной фактор транскрипции иммунного ответа, влияющий на апоптоз и клеточный рост. Сообщалось, что он играет важную роль в обеспечении анти-апоптоза, роста эндометриоидных клеток, их инвазии, ангиогенеза и продукции цитокинов при эндометриозе [94]. Предполагается, что полиморфизм гена NF-κB может быть связан с предрасположенностью к эндометриозу [28].

В эндометриоидных очагах, были также выявлены высокие уровни цитокинов, активирующих В-клетки, в частности, BLyS [80]. Эта молекула вырабатывается макрофагами и стимулирует развитие и дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки [38].

Аутоиммунные заболевания обычно связаны с определенными аллелями HLA. Были попытки выявить такую закономерность и для эндометриоза. В одном исследовании в японской популяции выявили связь эндометриоза с аллелями HLA-B54 и HLA-Cw7 класса I, HLA-DRB1*1403 и HLADQB1*0301 класса II [136, 137], а в другом исследовании выявили ассоциацию эндометриоза с аллелью HLA-B*0702 класса I и неравновесное сцепление с аллелями HLA-A24, HLA-Cw*0702 и HLADRB1*0101 класса II [43], в то время как в китайской популяции с эндометриозом били ассоциированы HLAB46 класса I, HLA-DRB1*15 класса II и HLADQA1*0401 [52, 138]. Однако такие корреляции не были выявлены в корейской или европейской популяции [105]. В исследовании, проведенном Sundqvist J. и соавт. (2011), в шведско-бельгийской популяции была обнаружена значительная связь с эндометриозом аллелей CCL21, HLA-DRB1 [63], однако эта ассоциация не была обнаружена в польской популяции [142].

Таким образом даже если в патогенезе эндометриоза присутствует генетический компонент, до сих пор не доказана его точная специфическая ассоциация с аллелями HLA. Несоответствие между различными популяциями может указывать на то, что для разных этнических групп существует множество разных генетических факторов развития эндометриоза, однако эта гипотеза требует дальнейших исследований.

Наряду с выработкой антител, В-лимфоциты производят цитокины, такие как ИЛ-6, фактор, стимулирующий колониеобразование гранулоцитов-макрофагов, и ИЛ-17, которые, как было показано, модулируют активность иммунных клеток, таких как $CD4^+$-Т-лимфоциты, и способствуют сохранению хронического субклинического воспалительного ответа при эндометриозе [130]. Кроме того, было показано, что в эутопическом эндометрии у пациенток с эндометриозом повышается уровень BCL6, белка, необходимого для развития В-клеток [62]. В противоположность этому, другие исследования показали, что экспрессия мРНК BCL6 в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом, наоборот, снижена [56].

Примечательно, что в исследовании на Т-нокаутных мышах было обнаружено, что дополнительный дефицит В-клеток не влияет на рост или ангиогенез эндометриоидного поражения [34].

**Цитокины, хемокины и факторы роста**

На сегодняшний день проводятся много исследований для поиска неинвазивных, либо малоинвазивных способов диагностики эндометриоза. Несмотря на большое количество выделенных биомаркеров их диагностическая специфичность противоречива и не позволяет применять в клинической практике. Причина в сложном этиопатогенезе заболевания, который затрудняет все дальнейшие звенья исследований.

Для более полного понимания патогенеза НГЭ представляется важным изучение роли ангиогенных, нейрогенных, лимфоангиогенных факторов, цитокинов, хемокинов, различных ростовых факторов в формировании и прогрессировании очагов НГЭ.

Перитонеальная жидкость пациенток с эндометриозом содержит высокие концентрации провоспалительных и ангиогенных цитокинов, хемокинов и факторов роста. Этот факт, вероятно, является следствием большого количества иммунных клеток в брюшной полости. Баланс цитокинов также нарушен и в периферической крови женщин с

эндометриозом, что указывает на системный характер заболевания [85, 106]. Все эти белки работают как медиаторы иммунной системы, регулируя пролиферацию и дифференцировку иммунных клеток, высвобождение ферментов и белков острой фазы, секрецию иммуноглобулинов и цитотоксическую активность иммунных клеток.

ИЛ-6 является одним из основных цитокинов воспалительного каскада при эндометриозе. Его уровень повышен в брюшной полости и в крови таких пациенток, и коррелирует с активностью заболевания [122]. ИЛ-6 продуцируется, в основном, макрофагами, но повышение уровней ИЛ-1β и ФНО-α также стимулирует его выработку перитонеальными мезотелицитами, что дополнительно вносит вклад в локальное воспаление [12]. ИЛ-6 может подавлять пролиферацию стромальных клеток эндометрия [90], однако было показано, что клетки в эндометриоидных очагах устойчивы к его действию [55]. Этот цитокин индуцирует активацию Т-лимфоцитов и дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки, продуцирующие антитела, и может приводить к поликлональной стимуляции В-клеток как при аутоиммунных заболеваниях [60].

Было также установлено, что ИЛ-6 и ТФР-β1 в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом снижают цитолитическую активность ЕК. В частности, ИЛ-6 снижает содержание компонентов цитолитических гранул ЕК [39, 113].

ИЛ-10 – противовоспалительный цитокин, экспрессия которого повышена при эндометриозе [129]. Он является мощным модулятором воспалительных реакций и функций иммунных клеток. ИЛ-10 ингибирует макрофаги и продукцию ими таких провоспалительных цитокинов, как ИФН-γ, ИЛ-2, ИЛ-3, ФНО-α и ГМ-КСФ. На мышиной модели продемонстрировано повышение и уменьшение роста эндометриоидных повреждений при введении и истощения ИЛ-10 соответственно [49]. Цицкарева Д. и соавт. [16] в своем исследовании также приходят к выводу о необходимости включения в схему лечения глубокого инфильтративного эндометриоза иммуномодулирующей

терапии рекомбинантным ИЛ-2, уровень которого снижен вследствие повышенной экспрессии ИЛ-10.

Yang H. и соавт. (2017) совместно культивировали стромальные клетки эндометрия пациентов с эндометриозом с макрофагами и с ЕК, и пришли к выводу, что взаимодействие стромальных клеток с макрофагами снижает цитотоксичность ЕК, предположительно, за счет увеличения продукции регуляторными Т-клетками ИЛ-10 и ТФР-β [144].

ИЛ-1 - еще один цитокин, уровень которого повышен при эндометриозе и коррелирует с его стадией [17]. Помимо влияния на В-клетки и выработку антител, ИЛ-1 (в частности ИЛ-1β) активирует NF-κB-воспалительный путь, индуцирует синтез ИЛ-6 и экспрессию COX-2 (запускает каскад воспалительных реакций), способствуя повышению уровня простагландинов, коллагена и восстановлению тканей, стимулирует пролиферацию фибробластов [128]. PGE2, в свою очередь, может ослабить цитотоксичность макрофагов и способствовать локальному синтезу эстрогенов, пролиферации клеток и ангиогенезу [118].

ФНО-α тоже повышен в перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом, инициирует NF-κB-воспалительный ответ и каскад цитокинов и прямо коррелирует со стадией заболевания [118].

Состояние иммунологической реактивности оказывает влияние также и на эффективность лечения бесплодия у женщин с эндометриозом [14]. Актуальным в лечении такого бесплодия является терапевтический подход, направленный на использование глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП), который стимулирует макрофаги через NOD2-рецепторы и увеличивает экспрессию макрофагами скавенджер-рецепторов [15].

Также было выявлено, что важными предикторами эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с «малыми» формами генитального эндометриоза является сниженное содержание В1-лимфоцитов ($CD20^+CD5^+$) и $CD86^+$-нейтрофилов, а также повышенное содержание ИЛ-$1\beta^+$-моноцитов [19].

ИЛ-8 также повышается при эндометриозе, он способствует клеточной адгезии, индуцирует хемотаксис нейтрофилов и других иммунных клеток и является мощным ангиогенным фактором. ИЛ-8 стимулирует рост эутопических и эктопических клеток эндометрия, вероятно, посредством активации ФНО-α, и может защищать эктопические клетки от гибели путем апоптоза. Он вырабатывается мезотелием в ответ на стимулы провоспалительных цитокинов. Уровень ИЛ-8 может коррелировать с тяжестью заболевания [30].

Было также продемонстрировано, что ИЛ-19 и ИЛ-22 значительно снижены в сыворотке крови женщин с эндометриозом яичников без глубокой инфильтрации [92]. Авторы приходят к выводу, что эти противовоспалительные цитокины оказывают иммуносупрессивное действие, а снижение их количества благоприятно для развития эндометриоза яичника.

ИЛ-13 - противовоспалительный цитокин, содержание которого снижено при эндометриозе. Это мощный регулятор активации макрофагов, следовательно, уменьшение его количества в перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом может вносить вклад в патогенез заболевания [59].

ИЛ-17 – провоспалительный цитокин, синтезируемый широким спектром иммунных клеток, в основном Th17. Показано, что ИЛ-17 может оказывать влияние на пролиферацию эктопической ткани и клинические проявления заболевания. Кроме того, ИЛ-17 стимулирует ангиогенез и продукцию провоспалительных цитокинов [81].

ИЛ-18 - провоспалительный цитокин, повышающий цитотоксическую активность ЕК, стимулирующий продукцию ИФН-γ Т-хелперами и индуцирующий СОХ-2 в перитонеальных моноцитах. Имеются данные, свидетельствующие о наличии связи между ИЛ-18 и эндометриозом [123].

В сыворотке и перитонеальной жидкости пациенток с глубоко инфильтрирующим эндометриозом обнаруживается также ИЛ-33 в повышенных концентрациях. Было продемонстрировано, что

внутрибрюшинные инъекции ИЛ-33 стимулируют системное воспаление, способствуют росту и васкуляризации эндометриоидного поражения [93].

MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1-го типа, МХП-1) – провоспалительный хемокин, уровень которого повышен как в перитонеальной жидкости, так и в периферической крови у женщин с эндометриозом [25]. Он принимает участие в активации макрофагов, моноцитов и лимфоцитов и коррелирует со стадией заболевания [33].

В патогенезе эндометриоза важную роль играет также продукция факторов роста — веществ, способных стимулировать пролиферацию и дифференцировку тканей [24]. В частности, в эндометриоидных очагах и в перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом при иммуноокрашивании обнаруживается ростовой фактор, индуцирующий ангиогенез, или васкуло-эндотелиальный фактор роста СЭФР [107]. В.А. Бурлевым и С.В. Павловичем в 1999г. была обобщена роль ангиогенных факторов роста при гинекологических заболеваниях и предложена теория нарушений циклического ангиогенеза как одного из ключевых факторов в патобиологии гиперпролиферативных гинекологичеких заболеваний [5]. Было показано, что нарушения регуляции ангиогенной активности в эутопическом эндометрии у женщин с эндометриозом, и эндометриоидные поражения с высокой пролиферативной активностью сопровождались более высокой местной ангиогенной активностью и более высокими уровнями СЭФР как в сыворотке крови, так и в перитонеальной жидкости [151].

Обобщение данных о нарушениях ангиогенеза при эндометриозе привело к идее, что применение антиангиогенной терапии может быть успешным терапевтическим подходом к лечению эндометриоза, по аналогии с применением данного вида терапии при злокачественных новообразованиях, в том числе в онкогинекологии. Обсуждается также и роль СЭФР в патогенезе эндометриоз-ассоцированного бесплодия [20].

Было показано, что хирургическое удаление эндометриоидных поражений снижает уровень СЭФР в сыворотке у пациенток [131],

источником повышенной выработки могут служить как эндометриоидные клетки, так и активированные перитонеальные макрофаги [107].

ТФР-β1 - еще один фактор роста, играющий важную роль в патогенезе эндометриоза. Его экспрессия значительно увеличена как, в эндометриоидных очагах, так и в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом. Считается, что ТФР-β синтезируется перитонеальными мезотелиоцитами [149]. В эксперименте на ТФР-β1-нокаутных мышиных моделях было продемонстрировано замедление развития эндометриоза. Введение им ТФР-β1 стимулировало развитие эндометриоидного поражения [78]. ТФР-β1 индуцирует экспрессию активированного протеазой рецептора 2-го типа (PAR2) в эндометриоидных клетках, что стимулирует секрецию ИЛ-6 [159].

Показано, что ТФР-β1 участвует также в регуляции экспрессии ВЭФР, способствуя ангиогенезу, и может увеличивать адгезивную способность эндометриоидных клеток. В эксперименте было показано, что при добавлении антител, нейтрализующих специфические ТФР-β1-опосредованные интегрины aV, β1 и β4 на клеточной мембране эндометрия, адгезия эндометриоидных клеток снижалась [155].

Исследования, проведенные по изучению воспалительных маркеров заболевания, показали более высокий риск образования заболевания при высоких показателях ИЛ-1β в плазме крови у пациенток, наблюдаемых за несколько лет до постановки диагноза НГЭ. Моноциты и макрофаги, нейтрофилы, Т-лимфоциты и эозинофилы, вовлеченные хемокинами СС и СХС, являются продуктами воспалительного ответа, выделяемыми эктопическим эндометрием. Диагностическая ценность уровней про- и противовоспалительных цитокинов активности натуральных киллеров, а также факторов адгезии и пролиферации, интерлейкинов: ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-33, ИЛ-22, факторов роста ТФР, СЭФР, хемокина МСР-1 и т. д. для неинвазивной диагностики заболевания. На основании результатов от выше перечисленных факторов можно судить о наличии, степени распространения заболевания и дальнейшей тактики ведения пациенток [27].

Наружный генитальный эндометриоз – одно из самых распространенных гинекологических заболеваний, диагностируемое чаще у женщин репродуктивного возраста. Прослеживается взаимосвязь данного заболевания и хронического воспалительного процесса в малом тазу на фоне увеличения продукции эстрогенов. Аутоиммунные процессы как на местном, так и на системном уровне, выходят на первый план в патогенезе генитального эндометриоза. Инфильтративные формы заболевания за последние годы диагностируются намного чаще, что со временем приводит к образованию спаечного процесса и осложнению оперативного доступа для устранения очагов эндометриоза, что в дальнейшем может привести к увеличению реабилитационного периода, рецидиву заболевания и снижению качества жизни пациенток. Исходя из этого, главенствующую роль занимает определение маркеров для неинвазивной диагностики, что поможет в понимании степени распространения заболевания и дальнейшей тактике ведения пациенток. В работе Ярмолинской М.И. и соавт. изучены уровни про- и противовоспалительных цитокинов, активность натуральных киллеров, факторы адгезии и пролиферации, установлена диагностическая ценность определения ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-33, ИЛ-22, факторов роста ТФР, СЭФР, хемокина МСР-1 для неинвазивной диагностики заболевания [27]. Оценка совокупности полученных результатов даст понимание о состоянии и степени распространения наружного генитального эндометриоза, тактики ведения пациентов и прогноза рецидивов.

Одна из причин развития эндометриоза - воспалительный процесс в области малого таза. Циклически, эктопический эндометрий, также как и нормальный эндометрий матки отслаивается, вызывая воспалительную реакцию окружающих тканей. Данный процесс приводит к первичным эндометриоидным поражениям. Из этих наблюдений рядом ученых были выбраны цитокины и воспалительные белки, как биомаркеры для диагностики эндометриоза, однако результаты были противоречивыми [61]. В многочисленных исследованиях ИЛ-6 отмечается как биомаркер

эндометриоза. Так, May K.E. с соавт., 2010, сообщили, что при пороговом значении ИЛ-6>1,9-2,00 пг/мл с чувствительностью 63% и специфичностью 69% с 95% вероятностью можно диагностировать распространенную форму НГЭ.

Zhang C с соавт. (2018), было отмечено, что уровень ингибирующего цитокина ИЛ-35, который участвует в формировании иммунной толерантности и продуцируется Т-рег, увеличен при эндометриозе [147]. Обращает на себя внимание факт большой вариабельности и даже противоречивости в большинстве представленных исследований содержания при НГЭ различных других воспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-17, ИЛ-23, МСР-1, ФНО-а, ИФН-γ, что затрудняет и даже делает нецелесообразным их оценку в клинической практике. Это связано, прежде всего, со сложностью в определении уровня цитокинов из-за вариабельности циркадных ритмов, методов сбора биоматериала, короткого периода полураспада цитокинов и методов их оценки.

Эндометриоидные поражения неоднородны по своей природе происхождения, появляются в сложной динамической среде местной воспалительной реакции, насыщенной ангиогенными и эндокринными факторами, эпителиальными, стромальными, эндотелиальными, железистыми и иммунными клеточными компонентами [83]. При транскриптомном профилировании эктопических биоптатов эндометриоидных поражений обнаружена высокая экспрессия генов иммунного ответа, цитокинов, молекул клеточной адгезии и апоптоза [83]. S. Suryanwanshi и соавт. в ходе исследований обнаружили в местах поражения эндометриозом, очаговую экспрессию иммунных компонентов, схожую с воспалительным профилем опухолевидных образований [53]. Эти же авторы обнаружили, что в патогенез эндометриоза, связанного с раком яичников, включается система комплемента [53].

## 1.3. Аутоиммунные нарушения при эндометриозе. Роль аутоантител в диагностике наружно-генитального эндометриоза.

Одно из существенных мест в патогенезе эндометриоза занимают аутоиммунные нарушения, имеющие место как на локальном, так и на системном уровне. Как известно, длительное носительство заболевания сочетается с выраженным спаечным процессом в комбинации с эндометриальными инфильтратами, что приводит к затруднениям при оперативном вмешательстве, увеличению реабилитационного периода и дополнительным хирургическим пособиям. При этом инфильтративные формы заболевания за последние годы диагностируются чаще. Важнейшую роль в диагностике генитального эндометриоза, приобретают маркеры неинвазивной диагностики. Их уровень поможет составить полную картину о степени распространения заболевания и, как следствие, в решении вопроса о целесообразности хирургического вмешательства. Эндометриоидные очаги способствуют локализованному иммунному и воспалительному ответу с выделением цитокинов, хемокинов и простагландинов [127]. Факторы нарушения врожденной и приобретенной иммунной системы играют значимую роль. Но, до настоящего времени остается не ясным, являются ли нарушения иммунной системы пусковыми механизмами образования эндометриоза, либо одним из его патофизиологических признаков. Аутоиммунные процессы влияют на развитие очагов эндометриоза. В данный процесс активно вовлекаются макрофаги, повышенное выделение В-клеток поликлональной активности, клетки-киллеры (ЕК) и регуляторные Т-клетки, повышение уровня цитокинов, увеличения уровня цитокинов, участвующих в регуляции аутоиммунитета, включая ИЛ-27, ИЛ-6, и трансформирующего фактора роста бета (ТФР-В). К нарушениям иммунного гомеостаза необходимо отнести снижение реакций клеточной цитотоксичности в отношении клеток аутологичного эндометрия с развитием аутоиммунных реакций.

В ряде исследований показана повышенная активность аутоантител при эндометриозе, что могло бы служить одним из биомаркеров диагностики данного заболевания. При изучении аутоантител к тропомиозину- 3a, антитропомодулину 3b, антитропомодулину 3c, антитропомодулину 3d и антитропомиозину 3d при использовании панели из вышеупомянутых иммуномаркеров была обнаружена высокая чувствительность в выявлении эндометриоза, в отличие от ранее изученных биомаркеров, в том числе и CA-125.

У женщин с эндометриозом изменяется активность В-клеток и увеличивается количество аутоантител к некоторым фосфолипидам, гистонам, полинуклеотидам [84]. Выброс эндометриальных белков в результате ретроградных менструаций может спровоцировать аутоиммунную реакцию и развитие эндометриоза. Данные антитела могут выступать в качестве органоспецифических антител к эндометрию и яичникам [44].

В ходе многочисленных исследований было обнаружены повышенные показатели аутоантител у 58% женщин с эндометриозом, в отличие от группы контроля. Имело место увеличение антинуклеарных антител, гладкомышечных антител, антикардиолипиновых антител и волчаночного антикоагулянта. Однако наличие антинуклеарных антител при эндометриозе не отягощает течение заболевания, оказывая вторичный иммунологический эффект.

Ламинин необходим для адгезии, миграции, пролиферации, дифференцировки клеток, ангиогенеза, метастазировании и поддержании структуры тканей. Ламинин-1 важный функциональный гликопротеин, из которой состоят базальные мембраны, при эмбриогенезе является ранним синтезируемым компонентом, оказывающим значимое содействие при эмбриональном развитии и имплантации. По результатам исследований была прослежена взаимосвязь антител к ламинину-1 IgG и наличию эндометриоза у женщин с бесплодием [36]. У 17 женщин из 42 испытуемых с диагностированным эндометриозом и бесплодием показатели антител к

ламинину-1 были значительно выше, чем у женщин без эндометриоза. Данные антитела выявлялись в 90% случаев диагностированного эндометриоидного поражения тканей. Имеются предположения о том, что эти антитела через опосредованное влияние на ламинин-1 запускают механизмы бесплодия при эндометриозе. Наличие IgG антител к ламинину-1 выявляется при бесплодии при эндометриозе, но не аденомиозе. Также наличие данных антител ассоциировалось с выкидышами на ранних сроках беременности. Ламинин-1 может выступать как мишень для антител и приводить к прерыванию беременности на ранних сроках у пациентов с эндометриозом, так и нарушать этапы формирования эмбриона, имплантацию, эмбриогенез и васкуляризацию плаценты [36].

Длительный воспалительный процесс способствует развитию местной аутоиммунной реакции. В норме у здорового человека в крови могут определяться аутоантитела, также они могут выступать как серологические маркеры массивного повреждения тканей, онкологического процесса и других состояний дисфункции организма. Задача аутоантител состоит в своевременном реагировании на инфекционный процесс, воспаление, путем взаимодействия и устранения окислительных липидов, белков и апоптотических клеток.

Воспалительный процесс, возникающий на месте эдометриоидных очагов, характеризуется повышенной секрецией простагландинов, металлопротеиназ, хемокинов и цитокинов [47, 48]. Увеличение показателей воспалительных цитокинов, интерлейкин-1В, интерлейкин-6 и фактора некроза опухоли, способствуют увеличению сцепления очагов ткани эндометрия на поверхности брюшины. На их имплантацию могут также влиять протеолитические мембранные протеиназы. Гранулоциты, естественные клетки киллеры и макрофаги, вовлекаются в процесс при участии интерлейкина-8, хемоаттрактантного белка-1 моноцитов. В дальнейшем происходит накопление иммунных клеток, цитокинов и хемокинов в местах поражения эндометриоза [84]. У женщин с эндометриозом

в тканях матки и эндометриоидной ткани происходит гиперпродукция простагландинов. Данный процесс способствует возникновению дисменореи и болей в области малого таза. Аутореактивность на месте поражения возникает как следствие хронического местного разрушения тканей. В ряде случаев реакция на эктопический эндометрий может быть незначительной, а в некоторых вызывать аутоиммунный процесс. Прекращение выработки прогестерона в лютеиновую фазу предменструального эндометрия способствует появлению ряда хемокинов, цитокинов и клеточных регуляторов, таких как простагландины интерлейкин-8, циклооксигеназа-2, хемотаксический пептид моноцитов-1 (MCP-1). Данная цепочка последовательных реакций приводит к ответной инвазии лейкоцитов в эндометрий, высвобождая металлопротеиназы, разрушая ткани, и последующему развитию менструальных выделений. В свою очередь, менструальные выделения, содержащие в большом количестве ИЛ-8 и MCP-1, образуют воспалительную реакцию из иммунных клеток.

У эндометриоидных поражений обнаружена резистентность к прогестерону [Bulun SE, 2010]. Данный факт приводит к имитации менструального типа в очагах поражения эндометриоза, которое приводит к хроническому воспалению. Тем самым, беременность и прием высоких доз прогестерона купируют симптомы заболевания, воспалительного процесса и приводят к его регрессии.

Схожесть симптомов у пациентов с НГЭ и аутоиммунными заболеваниями позволяет предположить наличие единых иммунологических механизмов формирования заболеваний. Данная связь была прослежена на основании общности клинических элементов и серологических факторов. Была обнаружена связь между эндометриозом и воспалительным заболеванием кишечника (ВЗК). Было показано, что женщины с НГЭ имели высокий риск ВЗК, болезни Крона и язвенного колита по отдельности, которые диагностировались и через многие годы после постановки диагноза эндометриоза. Нельзя полностью исключить, что это состояние могло быть

вызвано как приемом оральных контрацептивов с целью лечения НГЭ, так и в связи с иммунологическими особенностями каждой из диагностируемых женщин.

Имеется ряд аутоантител, которые влияют на фертильность женщины и ассоциируются с женским бесплодием при эндометриозе [44]. У части женщин с эндометриозом диагностируются антитела к трансферрину эндометрия и прикопротеину альфа 2-HS со специфической чувствительностью выше 90%. Данные антитела могут использоваться как диагностические маркеры при данном состоянии. Их повышение может свидетельствовать о наличии аутоиммунного процесса при эндометриозе. Аутоиммунитет к трансферрину может свидетельствовать о дисфункции овариальной функции при эндометриозе [44]. Также данные антитела могут оказывать влияние на функциональную активность сперматозоидов, тем самым внося вклад в формирование причин бесплодия у женщин с эндометриозом.

К настоящему времени имеется большое число публикаций, указывающих на возможность определения различных антител в качестве диагностики сывороточных маркеров при различных формах эндометриоза. В частности, антитела к альфа-енолазе, ламинину, синтаксину, тропомодулину, тропомиозину и к др., изолированно или в комбинации.

В настоящее время проводится поиск высокочувствительных и специфических биомаркеров для неинвазивной диагностики эндометриоза, мониторинга прогрессирования заболевания и эффективности лечения. По результатам предшествующих исследований некоторые аутоантитела к специфическим эндометриальным антигенам (тропомиозину 3, тропомодулину 3), к мембранному белку синтаксину 5, гликопротеину ламинину-1, гликолитическому ферменту α-енолазе могут рассматриваться в качестве потенциальных маркеров для неинвазивной диагностики эндометриоза. Эти молекулы вовлечены в процессы миграции, инвазии,

адгезии, пролиферации и апоптоза клеток и имеют важное значение в развитии эндометриоза.

Теория аутоиммунного процесса предполагает образование эндометриоза при нарушенном механизме иммунного ответа. Эту теорию подтверждает связь наличия аутоиммунного заболевания у женщин с подтвержденным эндометриозом.

Исходя из изложенного, считается общепризнанным участие иммунных механизмов в развитии и прогрессировании очагов эндометриоидных гетеротопий. Изменения в иммунном гомеостазе отражаются в появлении различных аутоиммунных антител, оценка которых в неинвазивной диагностике Э. является актуальным и перспективным направлением исследований.

# Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

## 2.1 Общая характеристика пациентов

Исследования в рамках диссертационной работы проведены на базе ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН, профессор, д.м.н. Г.Т. Сухих).

В исследование были включены 130 женщин репродуктивного возраста (20 -40 лет). В зависимости от дизайна задач исследования было сформировано 2 группы. В 1-ю группу включены 95 пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом. В группу контроля было включено 35 женщин репродуктивного возраста без эндометриоза. У 74 пациентов с РНГЭ и у 27 женщин контрольной группы проводилось исследование по определению аутоантител. У 21 пациентки с РНГЭ и 8 пациенток без Э было проведено изучение профиля секретируемых белков в культуре клеток *in vitro* из эутопического и эктопического эндометрия.

Диагноз устанавливался на предоперационном этапе, объективизировался при проведении оперативного лечения и был подтвержден при проведении морфологического исследования.

Проводилось полное клинико-анамнестическое обследование, с включением сбора анамнеза, общего и гинекологического осмотра, клинико-лабораторное обследование, УЗИ органов малого таза.

Всем пациентам с Э было проведено оперативное вмешательство, объем которого зависел от степени распространения заболевания.

Эндоскопическая операция проводилась по стандартизированной методике с помощью эндовидеохирургического оборудования фирмы «Karl Storz» (Германия). Все пациенты прооперированы лапароскопическим доступом по стандартной методике в положении Тренделенбурга в условиях эндотрахеального наркоза. Проводился тщательный осмотр органов брюшной полости и малого таза. Диагноз Э устанавливался при визуализации

эндометриоидных гетеротопий и последующей верификацией диагноза при гистологическом исследовании. Эндометриоидные очаги иссекались в пределах визуально здоровых тканей, во всех случаях проводилась гистероскопия и диагностическое выскабливание цервикального канала и полости матки с патоморфологическим исследованием операционного материала. Стадию распространения Э. определяли в соотвествии с пересмотренной классификацией Американского общества репродуктивной медицины (ASRM).

Образцы периферической крови получали перед проведением оперативного вмешательства. Полученные образцы направлялись в лабораторию по сбору и хранению биоматериалов ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – к.м.н. С.М. Муллабаева), замораживались при -70°С и хранились до проведения исследований.

В исследование не включались пациенты со злокачественными и аутоиммунными заболеваниями; при наличии гемотрансфузий в анамнезе; при наличии заболеваний, являющихся противопоказанием для оперативного лечения.

Критериями исключения из исследования служили острые воспалительные заболевания органов малого таза, инфекционные заболевнания, предшествующая как минимум в течение 3-х месяцев гормональная терапия Э.

Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в данном исследовании. Проведение исследования было одобрено комиссией по этике биомедицинских исследований при ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

## 2.2. Методы исследования

### 2.2.1 Общеклинические методы исследования

Пациентам, включенным в исследование, проводилось клинико-лабораторное обследование в соответствии с Приказом Минздрава России N 572н от 01 ноября 2012 г.

Проводилось:

- общее и специальное гинекологическое обследование;
- определение группы крови и резус-фактора;
- клинический анализ крови;
- гемостазиограмма;
- анализ крови на антитела к ВИЧ-1,2, вирусу гепатита С, возбудителю сифилиса и HBs-антиген;
- исследование на степень чистоты влагалища и флору цервикального канала;
- ультразвуковое исследование органов малого таза в пролиферативную фазу менструального цикла;
- цитологическое исследование мазков шейки матки;
- флюорография/ рентгенологическое исследование органов грудной клетки;
- ЭКГ;
- консультация терапевта;
- анализ концентрации гормонов в сыворотке крови (на 2-3 день менструального цикла): ЛГ, ФСГ, эстрадиол, ТТГ, Т3/Т4св, ДГЭАС, пролактин, кортизол, тестостерон, прогестерон.

У части пациенток, при наличии показаний, дополнительно к указанным методам, осуществлялось:

- рентгенологическое исследование матки и маточных труб (гистеросальпингография);
- бактериологическое исследование материала из цервикального канала;
- исследование цервикального мазка на ИППП методом ПЦР:

- консультации других специалистов по показаниям.

На первичном приеме пациенток производился полный сбор данных анамнеза. Осуществлялся сбор данных о возрасте, характере семейного положения, наследственности, аллергоанамнезе, перенесенных заболеваниях. Уточняли особенности менструального цикла и характер его формирования (возраст менархе, регулярность и продолжительность цикла, характер менструации, дисменорея), репродуктивный анамнез пациенток (количество беременностей, срочных и преждевременных родов, абортов, самопроизвольных выкидышей, неразвивающихся беременностей, внематочных беременностей, наличие осложненных беременностей и родов, наличие живых детей и их развитие), уточнялось, наступали ли беременности с настоящим или иным половым партнером. Собирались сведения о перенесенных гинекологических заболеваниях, оперативных вмешательствах, в том числе на органах малого таза, их давности, объеме вмешательства и особенности реабилитационного периода.

Первичный осмотр включал измерение роста, веса пациенток, подсчета ИМТ, артериального давления (АД) и пульса. Оценка гинекологического статуса основывалась на осмотре наружных половых органов, влагалища и шейки матки - в зеркалах и бимануального исследования.

УЗИ органов малого таза производилось в раннюю пролиферативную фазу менструального цикла на аппарате Logiq E 9, Voluson E 8 («компания GE», США, частота трансвагинального датчика - 6,5МГц). Оценивались размер и структура, наличие патологии тела и шейки матки, состояние ректовагинальной перегородки, определялась толщина и структура эндометрия, расположение, размеры и объем яичников, наличие объемных образований, локализацию патологического процесса, объемы и размеры, наличие и характеристики спаечного процесса, для учета при дальнейшем выполнении оперативного вмешательства.

До выполнения оперативного вмешательства все пациенты консультировались терапевтом и анестезиологом. При необходимости

осуществлялись дополнительные консультации (кардиологом, нефрологом, эндокринологом).

### 2.2.2 Лабораторные методы исследования

Лабораторные методы обследования включали: клинический анализ крови, биохимический анализ крови, гемостазиограмму, определение группы и резус-фактора крови, общий анализ мочи, исследование гормонального профиля. Всем пациенткам проводили тесты для исключения 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. Все пациентам проводилось электрокардиографическое и рентгенологическое исследование органов грудной клетки, по показаниям – эхокардиографическое исследование и УЗИ органов брюшной полости.

Патоморфологическое исследование проводилось в паталогоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – д.м.н., проф. А.И. Щеголев). Проводилась макроскопическая оценка операционного биопсийного материала, фиксация его в 10% нейтральном растворе формалина в течение 24 часов и заливка в парафин согласно стандартному протоколу гистологической проводки тканей, микротомия с приготовлением гистологических срезов толщиной 4-5 мкм, и их окрашивание гематоксилином и эозином с последующим морфологическим исследованием по стандартной общепринятой методике.

### 2.2.3. Специальные методы исследования

***Характеристика образцов сыворотки периферической крови.*** Образцы периферической крови для исследования получали в стандартных условиях из кубитальной вены.

***Определение аутоантител в сыворотке периферической крови.*** Исследование определения уровня аутоантител проводилось в лаборатории клинической иммунологиии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий - д.м.н. Кречетова Л.В.). Антитела к тропомиозину 3 (аТМЗ), тропомодулину 3 (аТМОД), синтаксину 5 (аСТ), α-енолазе (аЕН) определяли в сыворотке крови с помощью модификаций ИФА с использованием соответствующих рекомбинантных белков (“Abcam”, Великобритания), которые иммобилизовали на микропланшеты MaxiSorp (“Thermo Scientific Nunc”, Дания) в концентрации 2-5 мкг/мл в 100 мМ фосфатно-солевом буфере (ФСБ) (рН 7,4) при температуре 20±2°С в течение 15 ч. Свободные сайты связывания на полистироле блокировали 1% бычьим сывороточным альбумином (БСА) (масса/объём) в 100 мМ ФСБ при температуре 20±2°С в течение 1,5 ч. Конъюгаты моноклональных антител против IgM, IgG человека с пероксидазой хрена (“ХЕМА”, Россия) использовали в рабочих разведениях. Образцы сыворотки крови исследовали в разведении 1:100 в 100 мМ ФСБ, содержащем 0,5% БСА (масса/объём) и 0,05% твин-20 (по объёму). Инкубации с разведенной сывороткой и конъюгатом проводили при 20±2°С на шейкере при 200 об/мин в течение 1 ч. Оптическую плотность (ОП) измеряли на фотометре MULTISKAN EX (Thermo Electron (Shanghai) Instrument Co., Китай) при длине волны 450нм. Результат считали положительным, если средняя ОП исследуемого образца превышала среднюю ОП контрольных образцов более чем на два стандартных отклонения (2δ).

В сыворотке периферической крови пациенток определяли антитела классов М и G к гормонам: хорионическому гонадотропину человека (ХГЧ) и стероидным (прогестерону (ПГ) и эстрадиолу (Э)) по методике, описанной в публикациях Менжинской И.В. и соавт. [3, 8]. Антитела к гормонам определяли по методике непрямого твердофазного ИФА с использованием полистирольных микропланшетов с повышенной сорбционной емкостью (ООО ХЕМА, Москва), высокоочищенного препарата ХГЧ (Sigma Aldrich,

США) и конъюгатов прогестерона или эстрадиола с бычьим сывороточным альбумином (прогестерон 3-(О-карбокси-метил)оксим-БСА (ПГ-БСА) и β-эстрадиол 6-(О-карбокси-метил)оксим-БСА (Э-БСА)) (Sigma Aldrich, США), конъюгатов мышиных моноклональных антител к иммуноглобулинам человека классов М и G с пероксидазой хрена (ООО ХЕМА, Москва). В лунки микропланшета вносили по 50 мкл раствора ХГЧ (5 мкг/мл), ПГ-БСА (6,8 мкг/мл) или Э-БСА (5 мкг/мл) в фосфатно-солевом буферном растворе (рН 7,4), инкубировали при 20±2ºС в течение 16±2 часов. После 3-х-кратного промывания отмывочным буфером планшет обрабатывали блокирующим буфером, содержащим 1% БСА, вносили по 100 мкл на лунку, инкубировали при 20±2ºС в течение 1,5 часов. Исследуемые образцы сыворотки крови, положительные и отрицательные контрольные сыворотки исследовали в разведении 1:100 в дублях, вносили по 50 мкл на лунку, инкубацию проводили на встряхивателе при 20±2ºС в течение 1 часа. Планшеты промывали три раза отмывочным буфером (по 300 мкл на лунку). Конъюгаты с пероксидазой хрена к IgM и IgG человека вносили в лунки в рабочих разведениях по 50 мкл, инкубировали на встряхивателе при 20±2ºС в течение 1 часа. После промывания планшетов в лунки добавляли по 50 мкл субстратного раствора (ТМБ, ООО ХЕМА), инкубировали при 20±2ºС в течение 10-20 минут. Остановку ферментной реакции проводили добавлением стоп-реагента в равном объеме (ООО ХЕМА). Измерение оптической плотности (ОП) осуществлялось на иммуноферментном микропланшетном автоматическом анализаторе Infinite F50 (Tecan, Австрия) при 450 нм. Содержание антител выражали в единицах ОП. Результат анализа оценивали, как положительный, если средняя ОП образца превышала ОП отрицательного контроля в 2 раза или более.

Определение антител классов М и G к кардиолипину (КЛ) и β2-гликопротеину-I (β2-ГП-I) проводили с использованием иммуноферментных наборов производства ORGENTEC Diagnostika (Германия). Референсные значения содержания антител к кардиолипину (аКЛ) в крови составляли:

класса М - <7 MPL-Ед/мл, класса G - <10 GPL-Ед/мл. Нормальный диапазон концентраций антител (M, G) к β2-гликопротеину-I (aβ2-ГП-1) составлял <5 Ед/мл, пограничные значения в интервале 5-8 Ед/мл, положительные - >8 Ед/мл. Количественное определение антифосфолипидных антител проводили в соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору.

В лунки микропланшета с иммобилизованным фосфолипидом или фосфолипид-связывающим протеином вносили стандарты, отрицательный и положительный контроли и образцы сыворотки крови, разведенные 1:100 в буфере для разведения. Присутствующие в образцах антитела связывались с иммобилизованным антигеном во время инкубации. После промывания планшета в лунки вносили конъюгат антител против IgG или IgM человека с пероксидазой хрена в рабочем разведении. После инкубации избыток конъюгата удаляли, планшет промывали, в лунки вносили раствор хромогенного субстрата, содержащий 3,3’,5,5’-тетраметилбензидин (ТМБ). В результате ферментной реакции цвет раствора изменялся на голубой, а после добавления стоп-раствора, содержащего серную кислоту, цвет окрашивания менялся на желтый. Оптическую плотность (ОП) раствора измеряли на иммуноферментном микропланшетном автоматическом анализаторе Infinite F50 (Tecan, Австрия) при длине волны 450 нм. Содержание антител в образце определяли с помощью 4-параметрической калибровочной кривой зависимости ОП от концентрации антител.

Для определения IgG-антител к ламинину-1 в сыворотке крови больных использовали иммуноферментный набор IBL International (Германия). Нормальный диапазон концентраций IgG-антител к ламинину-1 в сыворотке составлял <12 Ед/мл, пограничные значения в интервале 12-18 Ед/мл, положительные - >18 Ед/мл. Анализ выполняли в соответствии с инструкцией по применению набора фирмы-производителя. Основные этапы анализа были аналогичными описанным для определения антифосфолипидных антител.

***Исследование культур клеток эутопического и эктопического эндометрия.***

Образцы эутопического и эктопического эндометрия забирали во время малоинвазивных операций - лапароскопии в сочетании с гистероскопией- у 21 пациентки с НГЭ. Диагноз Э подтвержался гистологически. У 8 пациенток, у которых в ходе оперативного вмешательства было подтверждено отсутствие Э, был осуществлен забор образцов эутопического эндометрия.

Образцы эутопического эндометрия и очагов эндометриоза помещали в стерильные пробирки. Образцы тканей промывались раствором фосфатно-солевого буфера, механически измельчались и инкубировались в 0,07% растворе коллагеназы IA (“Sigma-Aldrich”, США) при 37°С в течение 30 минут. Смесь центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 минут, надосадочную жидкость удаляли и осадок ресуспензировали в среде DMEM/F-12 (“ПанЭко”, РФ), содержавшей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (“HyClone”, Великобритания), 50 Ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина, 2 мМ L-глутамина (“ПанЭко”, РФ).

Полученную клеточную суспензию переносили в культуральные флаконы площадью 25 $см^2$, плотность посева составляла 3-5x$10^3$ ядросодержащих клеток на 1$см^2$.

Поверхностный фенотип клеток, взятых после первого пассажа, определяли с помощью стандартного набора моноклональных антител, меченных флуоресцеин-изотиоцианатом против антигенов CD90, CD26, CD34, фикоэритрином против антигенов CD105, CD146, CD14, CD200, HLA-DR, аллофикоцианином против антигенов CD73, CD45 (BD Bioscience, США). Анализ проводили с использованием проточного цитофлуориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, США).

Смена культуральной среды производилась каждые 3 суток, пассирование культур осуществлялось при достижении монослоя. Сбор кондиционированной среды для анализа растворимых факторов поводили во время второго пассажа при достижении в культуральном флаконе монослоя и центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 минут. Супернатант

аликвотировали по 1 мл, замораживали при минус 20°С, хранили до проведения исследования при минус 80°С.

В кондиционированной среде 2-го пассажа культур эктопического и эутопического эндометрия определяли содержание различных растворимых аналитов (ИЛ-1β, ИЛ-1ra, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-12(p70), ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17A, ИФН-γ, ФНОα, MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, IP-10, CSF, ГМ-КСФ, PDGF-bb, RANTES, Eotaxin, СЭФР, FGF basic) мультиплексным методом с использованием стандартной 27-плексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay (Bio-Rad, США) на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200 (Bio-Rad, США).

### 2.2.4. Статистический анализ

Статистический анализ полученных данных выполняли с помощью пакетов прикладных статистических программ Microsoft Office Excel 2010, MedCalc v. 12. Нормальность распределения значений в выборках оценивали с помощью W-теста Шапиро-Уилка, теста Колмогорова-Смирнова. Количественные данные представляли при нормальном распределении средним арифметическим и стандартным отклонением (M±SD), при отклонении от нормального распределения - медианой (Me) с 95% доверительным интервалом (95% ДИ) и размахом значений в пределах от 2,5‰ до 97,5‰ (Me(Q1; Q3)). Статистическую значимость различий между частотными показателями оценивали с помощью $\chi 2$-теста, между непрерывными величинами - с помощью U-теста Манна-Уитни. Различия принимали за статистически значимые при уровне достоверности $P<0,05$. Наличие связи между независимыми переменными и зависимой бинарной переменной определяли с использованием ROC-анализа (Receiver Operating Characteristics) и логистического регрессионного анализа. Связь между фактором риска и исходом оценивали по величине отношения шансов (ОШ). Анализ данных, полученных при проведении исследования культур клеток

эутопического и эктопического эндометрия, осуществлялся с использованием приложения Bio-Plex Manager 6,0 Properties (Bio-Rad, США). Концентрация аналитов рассчитывалась, исходя из продукции одним миллионом клеток в 1 мл культуральной среды (пг/мл/$10^6$кл).

# ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

## 3.1. Клиническая характеристика пациенток с распространенным наружно-генитальным эндометриозом

Проводился сбор анамнестических данных и оценка объективных показателей: учитывались инфекционные заболевания, перенесенные в детском и юношеском возрасте, экстрагенитальные заболевания, харктер менструальной функции, анамнез и состояние органов репродуктивной системы в настоящее время. Особое внимание уделялось факторам риска возникновения эндометриоза, ранее проводимому лечению и его эффективности. В подгруппу 1 были включены пациенты с ГИЭ без поражения яичника, в подгруппу – 2 - с ГИЭ с поражением яичника.

Возраст обследованных женщин представлен в таблице 1.

Таблица 1. Возраст обследованных пациентов

| Возраст | подгруппа 1 (n=53) | подгруппа 2 (n=42) | контрольная группа (n=35) |
|---|---|---|---|
| 20-25 | 6 (11,3%) | 6(14,3%)* | 2 (5,7%) |
| 26-29 | 14 (26,4%) | 7 (16,7%) | 7 (20,0%) |
| 30-35 | 19 (35,8%) | 19 (45,2%) | 19 (54,2%) |
| 36-40 | 14 (26,4%) | 10(23,8%) | 7 (20,0%) |

* достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой, $p<0,001$.

Возраст пациенток в группах колебался от 20 до 40 лет, составил в среднем в 1-ой подгруппе – 31,08±0,62 г., во 2-ой подгруппе - 32,04±0,83 г., год, в группе контроля – 32,7±0,91 г.

Наибольшее количество пациенток во всех исследуемых группах находилось в возрастной категории 30-35 лет.

Сведения о наличии экстрагенитальных заболеваний обследованных женщин приведены в таблице 2.

Таблица 2. Экстрагенитальные заболевания обследованных женщин

| Заболевания | подгруппа1 (n=53) | подгруппа 2 (n=42) | контрольная группа (n=35) |
|---|---|---|---|
| Детские инфекции | 18 (34,0%)* | 9 (21,4%) | 8 (22,8%) |
| Хронический гастрит | 15 (28,3%) | 14 (33,3%) | 10 (28,6%) |
| Язвенная болезнь 12-перстной кишки | 2 (3,8%)** | - | 1 (2,8%) |
| Хронический панкреатит | - | 2 (4,7%) | - |
| Варикозная болезнь | 7 (13,2%)** | 3 (7,1%) | 2 (5,7%) |
| Хронический цистит | 10 (18,9%)* | 5 (11,9%) | 4 (11,4%) |
| Хронический пиелонефрит | - | 3 (7,1%) | - |
| Железодефицитная анемия | 22 (41,5%)** | 18 (42,9%)** | 7 (20,0%) |
| Миопия | 7 (13,2%)* | 5 (11,9%) | 4 (11,4%) |
| Герпес | 3 (5,7%) | - | - |
| Хронический бронхит | 6 (11,3%)** | 3(7.1%) | 2 (5,7%) |

* достоверность различий показателей по сравнению с группой ИЭ, $p<0,05$

** достоверность различий показателей по сравнению с группой контроля, $p<0,05$

Среди наиболее часто встречающейся экстрагенитальной патологии у пациентов 1-ой подгруппы отмечены детские инфекции (в 34,3%), хронический гастрит (в 28,3%), хронический цистит (в 18,9%).

У пациентов 2-ой подгруппы наиболее часто имели место детские инфекции (в 21,4 %) и хронический гастрит (в 33,3% случаев).

У женщин в группе контроля наиболее часто отмечен хронический гастрит 28,6% , детские инфекции - 22,8% , хронический цистит – в 11,4% и железодефицитная анемия - в 20,0%.

Железодефицитная анемия отмечалась в обеих группах пациентов с эндометриозом достоверно чаще, чем в контрольной группе – в 41,5% и 42,9% случаев, соответственно, по сравнению с 20,0%.

Вредные привычки и профессиональные вредности не были выявлены ни в одной из трех групп.

Возраст менархе варьировал от 10 до 15 лет, в среднем составлял в 1-ой подгруппе 13,2±0,1 г. и достоверно не отличался от такового во 2-ой подгруппе 13,23±0,18 г и контрольной группе 13,1±0,15 лет ($p<0,05$).

Длительность менструального цикла у обследованных женщин в 1-ой подгруппе составила от 25 до 28 дней (27,75±0,11), во 2-ой подгруппе колебалась от 24 до 30 дней (27,42±0,27), и в группе контроля – от 27 до 35 дней (28,1±0,62). Достоверных различий между группами не выявлено.

У подавляющего большинства обследованных женщин менструальный цикл установился сразу и был регулярным с менархе. Статистических различий по данному показателю между группами не имелось.

Данные о характере менструальной функции представлены в таблице 3. Установлена большая частота нарушений менструальной функции у пациенток 1-ой группы, достоверно превышающая данный показатель в контрольной группе.

Средняя продолжительность менструального кровотечения в группах колебалась от 3 до 7 дней, составила в среднем в 1-ой подгруппе – 5,12±0,26 дней, во 2-ой подгруппе - 5,02±0,06 дней, в контрольной группе – 5,03±0,08 дней. Различия между группами были статистически недостоверны.

Таблица 3. Характер менструальной функции у обследованных женщин

| Особенности менструальной функции | подгруппа 1 (n=53) | подруппа 2 (n=42) | контрольная группа (n=35) |
|---|---|---|---|
| Регулярный менструальный цикл | 40 (75,5%) | 36 (85,7%) | 32 (91,4%) |
| Нерегулярный менструальный цикл | 13(24,5%)* | 6 (14,3%) | 3 (8,6%) |

* достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой, $p<0,05$

Болезненный характер менструаций имел место у 40 – 75,4% в 1-ой подгруппе, во 2ой - у 32 – 76,1%, и у 10 – 28,5% - в группе контроля, соответственно. Данные различия были статичстически значимыми.

Возраст начала половой жизни колебался от 17 до 27 лет, в среднем составляя 18,98±0,19 лет в 1-ой подгруппе, 18,85±0,20 лет - во 2-ой подгруппе, и 19,27±0,21 лет - в группе контроля.

В 1 подгруппе первичное и вторичное бесплодие суммарно имело место у 30 (56,6%), во 2-ой группе - у 22 (52,3%) пациентов и в группе контроля - у 2 (5,7%).

Данные о характеристике репродуктивных исходов представлены в таблице 4. У пациентов с эндометриозом роды имели место достоверно реже, чем у женщин в контрольной группе. В целом, по характеру репродуктивных исходов пациенты 1-ой и 2-ой группы были сопоставимы, достоверных различий между группами не было установлено.

Таблица 4. Характеристика репродуктивной функции

| **Показатель** | подгруппа 1 (n=53) | подгруппа 2 (n=42) | контрольная группа (n=35) |
|---|---|---|---|
| Роды в анамнезе | 15 (28,3%)* | 15 (35,7%)* | 22 (62,8%) |
| Искусственные аборты | 13 (24,5%) | 11 (26,1%) | 4 (11,4%) |
| Самопроизвольные выкидыши | 6 (11,3%) | 3 (7,1%) | 2 (5,6%) |
| Внематочная беременность | 2 (3,8%) | 2 (4,8%) | 1 (2,8%) |
| ЭКО в анамнезе | 3 (5,7%) | 2 (4,8%) | - |

* достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой, $p<0,001$

Анализ показателей репродуктивной функции свидетельствует о достоверно низком числе как первобеременных, так и повторнобеременных в обеих подгруппах женщин с эндометриозом и более высоком показателе в группе контроля.

Структура перенесенных гинекологических заболеваний представлена в таблице 5.

Наиболее часто в 1-ой подгруппе примерно у каждой третьей больной имелось указание на наличие миомы матки (30,2%) и опухолевидные образований яичников (18,8%). Во 2 -ой подгруппе имелось указание на миому матки - у 12 (28,6%), полипов эндометрия - у 10 (23,8%) и опухолевидных неэндометриоидных образований яичников - у 6 (14,3%).

Средняя величина массы тела в группах колебалась от 45 до 80 кг, составила в среднем в 1-ой подгруппе – 56,32±0,94 кг, во 2-ой подгруппе – 57,70±1,71 кг и в контрольной группе – 55,2±0,75 кг. Различия между группами статистически недостоверны.

Таблица 5. Структура гинекологических заболеваний

| Показатель | подгруппа 1 (n=53) | подгруппа 2 (n=42) | Контрольная группа (n=35) |
|---|---|---|---|
| Миома матки | 16 (30,2%)* | 12 (28,6%)* | 4 (11,4%) |
| Полип эндометрия | 14 (26,4%)* | 10 (23,8%)* | 2 (5,7%) |
| Опухолевидные образования яичников (кроме эндометриоидных) | 10* (18,8%) | 6 (14,3%) | 2 (5,7%) |
| Апоплексия яичника | 5 (9,4%) | 2 (4,8%) | 2 (5,7%) |
| Сальпингоофорит | - | 4 (9,5%) | 2 (5,7%) |
| Двухсторонние гидросальпинксы | 6 (10,0%) | 3 (7.1%) | 1 (2,8%) |
| Пельвиоперитонит | - | 4 (9,5%) | - |
| Абсцесс бартолиновой железы | | 1 (2,4%) | 1 (2,8%) |

* достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой, $p<0,001$.

Средняя величина ИМТ в группах колебалась от 18 до 27 кг/м$^2$, составила в среднем в 1-ой группе – 20,67±0,25 кг/м$^2$, во 2-ой группе 21,04±0,47 кг/м$^2$ – и в контрольной группе – 21,27±0,27 кг/м$^2$. Различия между группами также статистически были недостоверны.

При сборе анамнеза мы обращали внимание на ранее перенесенные оперативные вмешательства, проведенные женщинам с эндометриозом, в том числе не связанные с основным заболеванием. Частота оперативного лечения в анамнезе по поводу гинекологических заболеваний в 1-ой и во 2-ой подгруппах статистически не различалась.

Таким образом, до настоящего обследования у подавляющего большинства женщин в 2 подгруппах с эндометриозом не были выявлены различия факторов риска последующего развития заболевания.

До настоящего обследования, согласно анамнезу, у всех 95 пациенток с распространенным эндометрозом было проведено диагностическое исследование с целью подтверждения основного заболевания. У 53 женщин из 1-ой подгруппы было проведено 43 МРТ исследования, всем проводилось УЗИ, 9 диагностических лапароскопий, 32 колоноскопии и 12 МСКТ исследований. У 42 женщин из 2-ой подгруппы было проведено 28 МРТ исследований, всем были проведены УЗИ, 12 диагностических лапароскопий и 28 колоноскопий.

Всем пациентам с эндометриозом и в группе контроля при осмотре отклонений в строении наружных гениталий, вульвы и состояния их слизистой отмечено не было.

При осмотре при помощи зеркал пациенток 1-ой подгруппы, шейка матки имела коническую форму у 38 (71,7%) женщин, цилиндрическую форму – у 15 (28,3%) женщин. Наружный зев у пациенток ЭЯ группы был щелевидный у 46 (86,8%), округлый у 7 (13,2%) пациенток. У 27 (50,9%) пациенток ЭЯ группы изменений на шейке матки не было выявлено.

При осмотре при помощи зеркал пациенток 2 подгруппы, шейка матки имела коническую форму у 28 (66,6%) женщин, цилиндрическую форму у 10 (29,63%) женщин. Наружный зев у пациенток ИЭ группы был щелевидный у 19 (70,37%), округлый у 8 (29,63%) пациенток. У 23 (85,19%) пациенток ИЭ группы изменений на шейке матки не выявлены.

При осмотре при помощи зеркал пациенток контрольной группы, шейка матки имела коническую форму у 32(91,4%) женщин, цилиндрическую форму – у 3 (8,6%) женщин. Наружный зев у пациенток контрольной группы был щелевидный у 14 (40,0%), округлый у 21 (60,0%) пациенток. У 28 (80,0%) пациенток контрольной группы изменений на шейке матки не выявлены.

Анализ длительности течения заболевания показал, что с момента появления первых клинических признаков заболевания до обращения за медицинской помощью прошел период менее 1 года – у 10 (10,5%), от 1 года до 2-х лет – у 36 (37,9%), от 2-х до 5 лет – у 18 (18,9%) и более 5 лет – у 31 (32,6%). Данный анализ показал, что больше половины пациентов с ГИЭ обращалась за медицинской помощью как минимум спустя 2 года после клинической манифестации заболеввания.

## Глава 3.2. Результаты исследования аутоиммунных маркеров для неинвазивной диагностики распространенных форм наружного генитального эндометриоза

Исследование спектра аутоиммунных антител в сыворотке крови было проведено у женщин, проходивших хирургическое лечение в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Диагноз НГЭ был поставлен согласно классификации Американского общества по репродуктивной медицине (rASRM) во время проведения оперативного вмешательства. Группу контроля составили женщины репродуктивного возраста без Э (n=27).

В целом, у пациентов с эндометриозом был выявлен широкий спектр сывороточных аутоантител разной специфичности (таблица 6), включающий антитела к гормонам (эстрадиолу (Э), прогестерону (ПГ), хорионическому гонадотропину человека (ХГЧ)), к специфическим эндометриальным антигенам (тропомиозину 3 (ТМЗ), тропомодулину 3 (ТМОД)), гликолитическому ферменту α-енолазе (ЕН) и антифосфолипидные антитела (аФЛ).

Статистически значимо чаще у пациенток с эндометриозом обнаруживались антитела к прогестерону, эстрогенам, ХГЧ, эндометриальным антигенам (ТМОД, ТМЗ) и α-енолазе. При этом в группе эндометриоза отмечалась наиболее высокая вероятность образования антител к эстрадиолу, ХГЧ, ТМЗ и прогестерону (ОШ>4,0; P<0,05 Антифосфолипидные антитела классов М и G суммарно были выявлены у 11 пациенток: IgM-антитела к КЛ, β2-ГП-1 и ФС - у 2 (2,7%) пациенток, IgM- и IgG-антитела к Ан V и ПТ – у 1 (1,4%) пациентки антитела каждого вида, IgG к C1q – у 3 (4,1%) пациенток. Хотя в группе контроля ни у одной из женщин аФЛ не были найдены, различия между двумя группами по частоте обнаружения аФЛ не были статистически значимыми.

Частота выявления аутоантител классов М и G в сыворотке крови у пациенток с Э и у женщин группы контроля представлена в таблице 7.

Таблица 6. Распространенность аутоантител разной специфичности у пациенток с НГЭ (абс. ч., %)

| Параметры | Группа с Э (n=74) | Группа контроля (n= 27) | $P_1$-уровень | ОШ, 95% ДИ | $P_2$-уровень |
|---|---|---|---|---|---|
| аПГ | 25 (33,8%) | 3 (11,1%) | 0,025 | 4,1[1,12-14,9] | 0,033 |
| аЭ | 37 (50%) | 3 (11,1%) | 0,0004 | 8,0[2,22-28,9] | 0,002 |
| аХГЧ | 21 (28,4%) | 2 (7,4%) | 0,027 | 4,95[1,08-22,8] | 0,04 |
| аЕН | 32 (43,2%) | 5 (18,5%) | 0,023 | 2,7[0,93-7,86] | 0,07 |
| аТМОД | 29 (39,2%) | 4 (14,8%) | 0,021 | 3,7[1,16-11,82] | 0,027 |
| аТМЗ | 27 (36,5%) | 3 (11,1%) | 0,014 | 4,6[1,26-16,7] | 0,021 |
| аФЛ | 8 (10,8%) | 0 | 0,077 | 7,0[0,39-126,1] | 0,19 |

Примечание: $P_1$ – уровень значимости различий между показателями частоты в двух группах; отношение шансов (ОШ), 95%-ый доверительный интервал (ДИ) и уровень значимости ($P_2$).

У пациенток с НГЭ значимо чаще, чем у женщин группы контроля, выявлялись IgM- и IgG-антитела к эстрадиолу и ХГЧ, IgM-антитела к ПГ, IgG-антитела к ТМЗ, ТМОД и α-енолазе ($P<0,05$). Риск образования IgM-антител к эстрадиолу и прогестерону в группе эндометриоза был выше в 16,8 и 11 раз, соответственно, чем в группе контроля. При этом значимых различий в частоте выявления IgM-антител к α-енолазе, ТМЗ, ТМОД и IgG-антител к ПГ не было обнаружено.

Таблица 7. Частота выявления аутоантител классов M и G в сыворотке крови у пациенток с НГЭ

| Параметры | Группа с Э (n=74) | Группа контроля (n= 27) | $P_1$-уровень | ОШ, 95% ДИ | $P_2$-уровень |
|---|---|---|---|---|---|
| аПГ IgG | 13 (17,5%) | 2 (7,4%) | 0,21 | 2,7[0,56-12,7] | 0,22 |
| аПГ IgM | 22 (29,7%) | 1(3,7%) | 0,006 | 11[1,4-86,2] | 0,022 |
| аЭ IgG | 26 (35,1%) | 3(11,1%) | 0,019 | 4,2[1,14-15,2] | 0,031 |
| аЭ IgM | 29 (39,2%) | 1(3,7%) | 0,0006 | 16,8[2,2-130,3] | 0,007 |
| аХГЧ IgG | 19 (25,6%) | 2(7,4%) | 0,047 | 4,3[0,93-19,9] | 0,06 |
| аХГЧ IgM | 15 (20,3%) | 1(3,7%) | 0,044 | 6,6[0,83-52,7] | 0,075 |
| аЕН IgG | 18 (24,3%) | 1(3,7%) | 0,02 | 8,4[1,06-66,0] | 0,044 |
| аЕН IgM | 20 (27%) | 5(18,5%) | 0,38 | 1,6[0,54-4,89] | 0,38 |
| аТМОД IgG | 21 (28,4%) | 2(7,4%) | 0,027 | 5[1,08-22,8] | 0,04 |
| аТМОД IgM | 11 (14,9%) | 4(14,8%) | 0,99 | 1,0[0,29-3,47] | 0,99 |
| аТМЗ IgG | 17 (22,9%) | 1(3,7%) | 0,026 | 7,8[0,98-61,4] | 0,052 |
| аТМЗ IgM | 18 (24,3%) | 2(7,4%) | 0,06 | 4,0[0,87-18,6] | 0,076 |

Примечание: $P_1$ – уровень значимости различий между показателями частоты в двух группах; отношение шансов (ОШ), 95%-ый доверительный интервал (ДИ) и уровень значимости ($P_2$).

В таблице 8 представлены данные об уровне аутоантител классов G и M в обследованных группах. У пациенток с эндометриозом медианные уровни IgM-антител к эстадиолу, ХГЧ и ТМЗ, а также IgG-антител к эстрадиолу, ХГЧ, α-енолазе и ТМОД были значимо выше, чем у женщин в группе контроля.

Таблица 8. Уровень аутоантител классов G и M в сыворотке крови у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (Me(Q2,5-Q97,5)).

Примечание: *- при P<0,05 различия между группами считали значимыми.

| Параметры | Группа с НГЭ (n=74) | Группа контроля (n= 27 ) | P*-значения |
|---|---|---|---|
| аПГ IgG | 0,245[0,124; 1,48] | 0,256 [0,157;0,447] | 0,42 |
| аПГ IgM | 0,286 [0,154; 0,891] | 0,212[0,146;0,466] | 0,123 |
| аЭ IgG | 0,304 [0,129; 1,19] | 0,261[0,154;0,572] | 0,0148 |
| аЭ IgM | 0,306 [0,098; 0,838] | 0,220[0,115;0,495] | 0,0003 |
| аХГЧ IgG | 0,257 [0,150; 0,925] | 0,229[0,136;0,421] | 0,048 |
| аХГЧ IgM | 0,229 [0,133; 0,494] | 0,172[0,122;0,362] | <0,0001 |
| аЕН IgG | 0,296 [0,167; 0,777] | 0,215[0,111;0,385] | 0,015 |
| аЕН IgM | 0,247 [0,113; 0,990] | 0,350[0,173;0,717] | 0,29 |
| аТМОД IgG | 0,253 [0,120; 0,970] | 0,210[0,132;0,636] | 0,038 |
| аТМОД IgM | 0,194 [0,118; 0,630] | 0,209[0,106;0,650] | 0,91 |
| аТМЗ IgG | 0,277 [0,143; 0,670] | 0,220[0,130;0,474] | 0,062 |
| аТМЗ IgM | 0,268 [0,144; 0,765] | 0,160[0,116;0,540] | <0,0001 |

По данным ROC-анализа высокую диагностическую значимость для эндометриоза имели IgM-антитела к ТМЗ, эстрадиолу, прогестерону и ХГЧ, их определение характеризовалось высокими значениями площади под кривой (AUC 0,721 - 0,847; p<0,01), показателями чувствительности и специфичности (таблица 9).

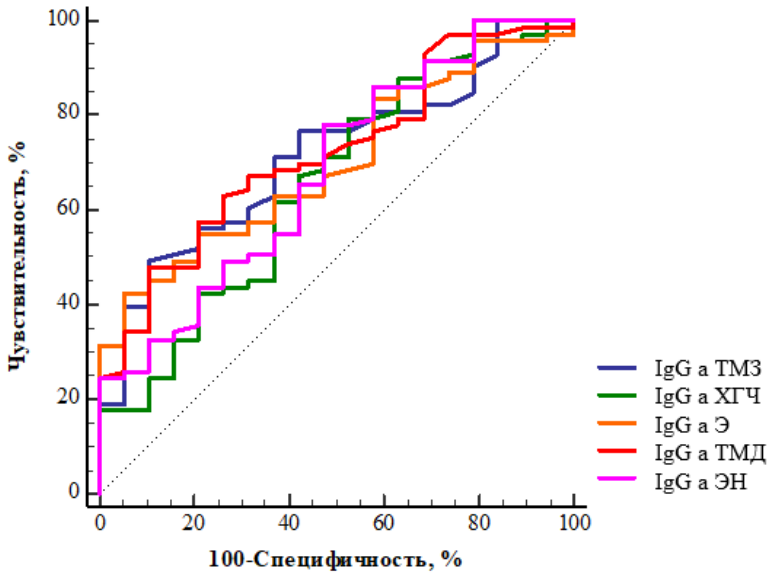
Таблица 9. Диагностическая значимость определения аутоантител при распространенных формах наружного генитального эндометриоза

| Вид анти-тел | CV, ед. ОП | Se, % | Sp, % | PPV, % | NPV, % | AUC, 95% ДИ | Значе-ние P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| аЕН IgG | >0,215 | 78,1 | 52,6 | 81,9 | 46,7 | 0,682[0,577;0,775] | 0,009 |
| аТМОД IgG | >0,224 | 67,1 | 59,3 | 81,9 | 39,6 | 0,636[0,533;0,739] | 0,032 |
| аТМЗ IgG | >0,234 | 56,2 | 63 | 80,7 | 34,4 | 0,629[0,520-0,717] | 0,046 |
| аТМЗ IgM | >0,179 | 79,5 | 77,8 | 90,7 | 58,0 | 0,847[0,761-0,911] | <0,001 |
| аХГЧ IgG | >0,234 | 57,5 | 55,6 | 78,0 | 32,3 | 0,629[0,526-0,723] | 0,043 |
| аХГЧ IgM | >0,184 | 79,5 | 66,7 | 86,8 | 54,2 | 0,781[0,687-0,857] | <0,001 |
| аЭ IgG | >0,275 | 57,5 | 63 | 81,0 | 35,1 | 0,659[0,558-0,751] | 0,008 |
| аЭ IgM | >0,252 | 61,6 | 74,9 | 87,1 | 41,5 | 0,736[0,639-0,819] | <0,001 |
| аПГ IgM | >0,255 | 61,6 | 70,4 | 85,1 | 40,0 | 0,721[0,622-0,806] | <0,001 |

Примечание: CV - значения критерия, Se - чувствительность, Sp - специфичность, AUC - площадь под ROC-кривой с 95%-ым доверительным интервалом; P – уровень значимости.

Проведение ROC-анализа позволило дифференцировать пациенток в двух группах по уровню IgM-антител к ТМЗ, эстрадиолу, прогестерону и ХГЧ, при этом предсказательная способность модели оценивалась по значениям AUC более 0,7, как хорошая (рисунок 1).

**А**




**Б**

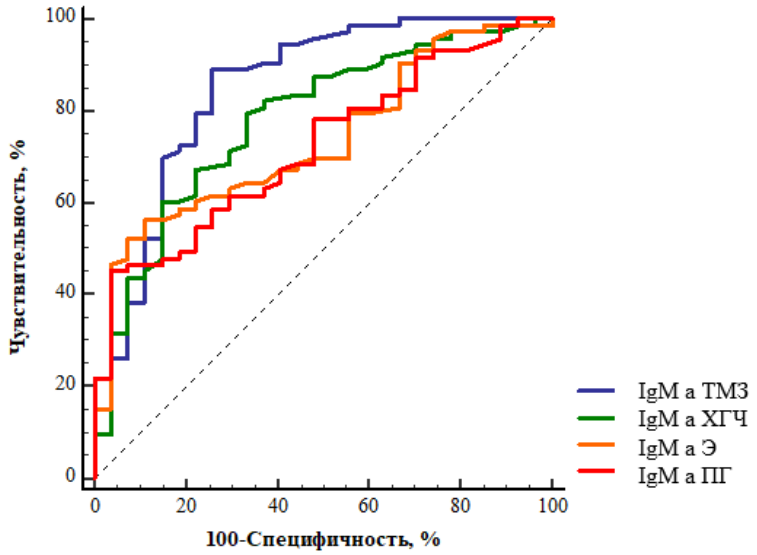



Рис. 1. ROC-кривые вероятности наличия наружного генитального эндометриоза в зависимости от уровня аутоантител класса G (А) и класса М (Б) в сыворотке крови.

По данным множественного логистического регрессионного анализа, определение комбинаций антител характеризовалось высокой диагностической значимостью для распространенных форм НГЭ, при этом показатели AUC

достигали 0,800 - 0,843, а диагностическая точность анализа составляла 80-84,8% (табл. 10.).

Таблица 10. Диагностическая значимость определения комбинаций аутоантител при распространенных формах наружного генитального эндометриоза

| Вид антител | AUC, 95% ДИ | Диагностическая точность % | Значение Р |
|---|---|---|---|
| аТМЗ IgM + а ХГЧ IgM | 0,843[0,757-0,908] | 81 | <0,0001 |
| аЭ IgG + а ТМЗ IgM | 0,800[0,704-0,876] | 84,8 | 0,0002 |
| аТМЗ IgM + а Э IgM | 0,835 [0, 748-0,902] | 80 | <0,0001 |

В таблице 11 представлены данные о частоте выявления аутоантител у пациентов с ГИЭ и поражением яичников (подгруппа 1), с ГИЭ и без поражения яичников (подгруппа 2). Полученные данные демонстрируют, что у пациентов обеих подгрупп достоверно чаще определялись IgM-антитела к прогестерону и эстрадиолу и IgG-антитела к ТМЗ по сравнению с женщинами без эндометриоза. У пациентов с эндометриоидным поражением яичников (подгруппа 1) значимо чаще определялись антитела классов М и G к ХГЧ и ТМЗ, IgG-антитела к ТМОД и α-енолазе и IgM-антитела к прогестерону и эстрадиолу, чем в группе контроля. При этом значимые различия частоты выявления сывороточных аутоантител у пациенток с распространенными формами ГИЭ и поражением яичников (подгруппа 1) и с ГИЭ без поражения яичников (подгруппа 2) не были найдены.

Таблица 11. Частота выявления аутоантител в сыворотке крови у пациенток с распространенными формами наружного генитального эндометриоза с поражением яичников и без поражения яичников

| Параметры | Подгруппа 1 (n=53) | Подгруппа 2 (n=21) | Группа контроля (n= 27) | Р- уровень |
|---|---|---|---|---|
| аПГ IgG | 10(18,9%) | 3 (14,3%) | 2 (7,4%) | 0,64*<br>0,18**<br>0,44*** |
| аПГ IgM | 17(32,1%) | 5(23,8%) | 1(3,7%) | 0,48*<br>0,004**<br>0,039*** |
| аЭ IgG | 21(39,6%) | 5(23,8%) | 3(11,1%) | 0,2*<br>0,0089**<br>0,25*** |
| аЭ IgM | 21(39,6%) | 8(38,1%) | 1(3,7%) | 0,91*<br>0,0007**<br>0,003*** |
| аХГЧ IgG | 15(28,3%) | 4(19%) | 2(7,4%) | 0,41*<br>0,032**<br>0,23*** |
| аХГЧ IgM | 12(22,6%) | 3(14,3%) | 1(3,7%) | 0,43*<br>0,0007**<br>0,19*** |
| аЕН IgG | 14(26,4%) | 4(19%) | 2(7,4%) | 0,51*<br>0,046**<br>0,24*** |
| аЕН IgM | 13(24,5%) | 7(33,3%) | 5(18,5%) | 0,45*<br>0,55**<br>0,24*** |
| аТМОД IgG | 17(32,1%) | 4(19%) | 3(11,1%) | 0,26<br>0,0042*<br>0,45** |
| аТМОД IgM | 9(16,9%) | 2(9,5%) | 4(14,8%) | 0,42*<br>0,81**<br>0,58*** |
| аТМЗ IgG | 11(20,8%) | 6(28,6%) | 1(3,7%) | 0,48*<br>0,04**<br>0,0165*** |
| аТМЗ IgM | 14(26,4%) | 4(19%) | 2(7,4%) | 0,51*<br>0,046**<br>0,23*** |

Примечание: *- значения Р при сравнении показателей частоты в подгруппах 1 и 2, ** - в подгруппе 1 и группе контроля, *** - в подгруппе 2 и группе контроля.

Сравнение уровней выявленных антител у пациенток с разными формами эндометриоза (подгруппы 1 и 2) представлено в таблице 12. У пациенток в подгруппе 1 отмечался значимо более высокий уровень IgG-антител к ХГЧ, ЕН, ТМОД и Э, IgM-антител к ПГ, Э, ХГЧ и ТМЗ, чем в группе контроля. У пациенток в подгруппе 2 найдены значимо более высокие уровни IgG-антител к прогестерону и ТМЗ, IgM-антител к ХГЧ и ТМЗ. У пациенток подгруппы 1 отмечались значимо более высокие уровни IgG-антител к ПГ, Э и ТМОД по сравнению с пациентками подгруппы 2.

В таблице 13 представлены данные о диагностической значимости аутоантител для НГЭ с поражением яичников. Полученные данные указывают на высокую диагностическую значимостью IgM-антител к ТМОД, Э и ХГЧ, а также IgG-антител к Э для НГЭ с поражением яичников, с высокими значениями площади под кривой (AUC 0,717 - 0,848; $p<0,001$).

Построенные ROC-кривые, представленные на рисунке 2 позволяли эффективно дифференцировать пациенток с НГЭ и поражением яичников и женщин группы контроля по уровню IgM-антител к ТМЗ, Э, ХГЧ и IgG-антител к Э, при этом предсказательная способность модели оценивалась как хорошая (AUC более 0,7).

Определение комбинации аутоантител, включающей IgM-антитела к ТМЗ и ХГЧ, а также IgG-антитела к α-енолазе, существенно повышало диагностическую значимость антител для НГЭ с поражением яичников, значение AUC по данным множественного логистического регрессионного анализа достигало 0,875 [0,772-0,978] ($p<0,0001$), показатель диагностической точности составлял 83,3%.

Таблица 12. Уровень аутоантител в сыворотке крови у пациенток с распространенными формами наружного генитального эндометриоза с поражением яичников и без поражения яичников.

| Параметры | Подгруппа 1 (n=53) | Подгруппа 2 (n=21) | Группа контроля (n=27 ) | Р-уровень |
|---|---|---|---|---|
| аПГ IgG | 0,260[0,124;1,48] | 0,198[0,134; 0,471] | 0,256 [0,157;0,447] | 0,038* 0,92** 0,044*** |
| аПГ IgM | 0,350[0,154;0,891] | 0,241[0,164;0,871] | 0,212[0,146;0,466] | 0,064* 0,0001** 0,24*** |
| аЭ IgG | 0,346[0,129;1,19] | 0,249[0,174;0,513] | 0,261[0,154;0,572] | 0,009* 0,0016** 0,94*** |
| аЭ IgM | 0,318[0,098;0,772] | 0,246[0,154;0,838] | 0,220[0,115;0,495] | 0,203* 0,0034** 0,081*** |
| аХГЧ IgG | 0,262[0,183;0,925] | 0,219[0,150;0,683] | 0,229[0,136;0,421] | 0,131* 0,0206** 0,57*** |
| аХГЧ IgM | 0,240[0,133;0,494] | 0,217[0,155;0,467] | 0,172[0,122;0,362] | 0,223* <0,0001** 0,006*** |
| аЕН IgG | 0,305[0,167;0,777] | 0,279[0,177;0,606] | 0,215[0,111;0,385] | 0,616* 0,0134** 0,097*** |
| аЕН IgM | 0,235[0,113;0,990] | 0,285[0,153;0,640] | 0,280[0,146;0,547] | 0,046* 0,106** 0,39*** |
| аТМОД IgG | 0,306[0,120;0,907] | 0,232[0,134;0,650] | 0,210[0,132;0,636] | 0,0204* 0,0099** 0,76*** |
| а ТМОД IgM | 0,222[0,118;0,630] | 0,192[0,130;0,542] | 0,209[0,106;0,650] | 0,57* 0,87** 0,95*** |
| аТМЗ IgG | 0,273[0,143;0,273] | 0,307[0,144;0,577] | 0,220[0,130;0,474] | 0,35* 0,135** 0,044*** |
| аТМЗ IgM | 0,278[0,144;0,765] | 0,247[0,161;0,7] | 0,160[0,116;0,540] | 0,44* <0,0001** 0,0001*** |

Примечание: *- значения Р при сравнении показателей частоты в подгруппах 1 и 2, ** - в подгруппе 1 и группе контроля, *** - в подгруппе 2 и группе контроля.

Таблица 13. Диагностическая значимость определения аутоантител при распространенных формах наружного генитального эндометриоза с поражением яичника

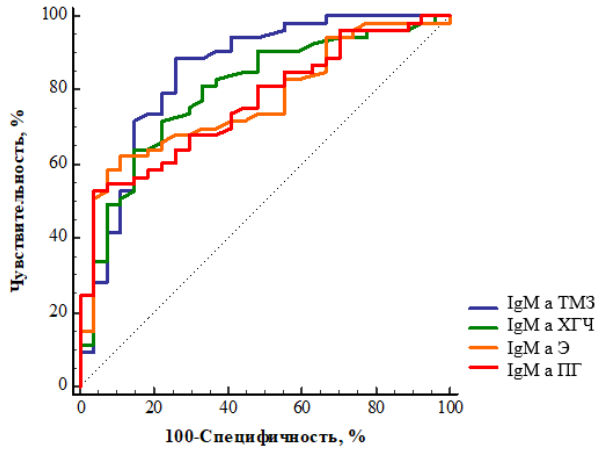
| Вид антител | CV, Ед. ОП | Se, % | Sp, % | AUC, 95% ДИ | Значение P |
|---|---|---|---|---|---|
| аЭН IgG | >0,215 | 77,4 | 52,6 | 0,692[0,572;0,796] | 0,006 |
| аТМОД IgG | >0,224 | 71,7 | 59,3 | 0,677[0,563;0,777] | 0,0059 |
| аТМЗ IgM | >0,18 | 88,7 | 74,1 | 0,848[0,75-0,918] | 0,0001 |
| аХГЧ IgG | >0,229 | 67,9 | 51,9 | 0,659[0,544-0,761] | 0,0165 |
| аХГЧ IgM | >0,199 | 71,7 | 77,8 | 0,798[0,693-0,879] | <0,001 |
| аЭ IgG | >0,266 | 71,7 | 59,3 | 0,717[0,605-0,812] | 0,0003 |
| аЭ IgM | >0,232 | 71,7 | 59,3 | 0,769[0,661-0,856] | <0,0001 |

Примечание: CV- значение критерия, значения чувствительности (Se), специфичности (Sp), площади под ROC-кривой (AUC) с 95%-ым доверительным интервалом; P – уровень значимости.

Анализ данных о диагностической значимости аутоантител для НГЭ без поражения яичников показал высокий уровень диагностической значимости IgM-антител к ТМЗ и ХГЧ, площадь под кривой (AUC) составила 0,736 и 0,844; p<0,001), (таблица 14).

Представленные на рисунке 3 ROC-кривые позволяли эффективно дифференцировать пациенток с НГЭ без поражения яичников и женщин группы контроля по уровню IgM-антител к ТМЗ и ХГЧ, при этом предсказательная способность модели оценивалась как хорошая (AUC более 0,7).

**А**




**Б**

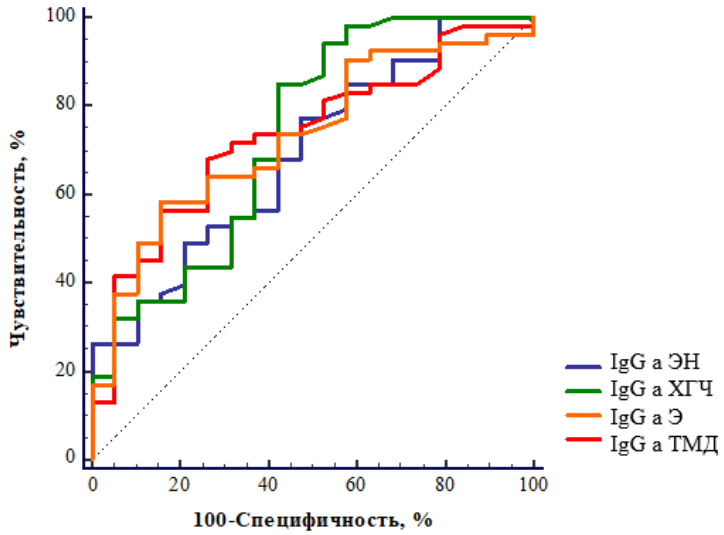



Рис. 2. ROC-кривые вероятности наличия наружного генитального эндометриоза с поражением яичников у женщин в зависимости от уровня аутоантител класса M (А) и класса G (Б) в сыворотке крови.

IgM-антитела к ТМЗ и ХГЧ имеют высокое диагностическое значение при обеих формах ГИЭ, как с поражением яичников, так и без него. При определении комбинации данных аутоантител для диагностики ГИЭ без поражения яичников значение AUC составило 0,835 (95% ДИ [0,698-0,927]; P=0,007), диагностическая точность – 70,2%.

Таблица 14. Диагностическая значимость определения аутоантител при распространенных формах наружного генитального эндометриоза без поражения яичников

| Вид антител | CV,<br>Ед. ОП | Se,<br>% | Sp,<br>% | AUC,<br>95% ДИ | Значение<br>P |
|---|---|---|---|---|---|
| аТМЗ IgM | >0,18 | 90 | 74,1 | 0,844[0,708-0,933] | <0,0001 |
| аХГЧ IgM | >0,18 | 80 | 63,0 | 0,736[0,587-0,854] | 0,0013 |

Примечание: CV- значение критерия, значения чувствительности (Se), специфичности (Sp), площади под ROC-кривой (AUC) с 95%-ым доверительным интервалом; P – уровень значимости.

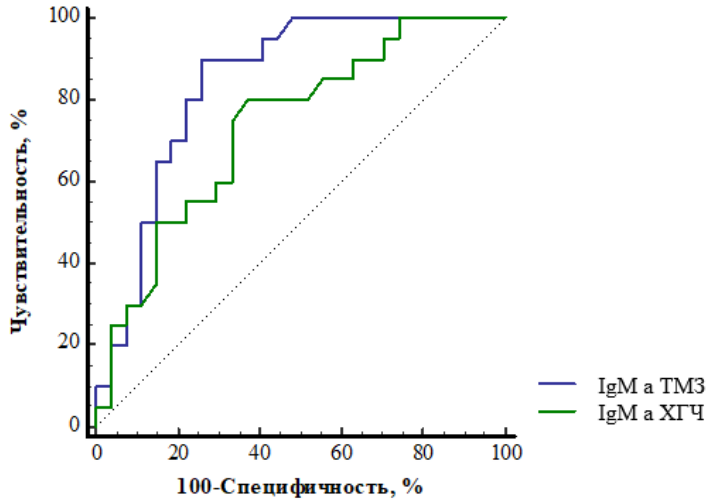



Рисунок 3. ROC-кривые вероятности наличия наружного генитального эндометриоза без поражения яичников у женщин в зависимости от уровня аутоантител в сыворотке крови.

## Глава 3.3. Профиль секретируемых белков клетками из эндометриоидных очагов и эутопического эндометрия женщин с наружным генитальным эндометриозом

Данный этап исследования был проведен для сравнительной оценки профиля секретируемых белков клетками из эутопического эндометрия и эндометриоидных очагов пациенток с распространенными формами НГЭ. У 18 из 21 пациентки с РНГЭ были взяты парные образцы эутопического и эндометрия и эктопических эндометриоидных очагов. У пациенток из группы контроля были взяты только образцы эутопического эндометрия, интраоперационно в этой группе было подтверждено отсутствие очагов Э.

Фенотип клеток, выделенных из тканей эутопического эндометрия и эндометриоидных очагов, после второго пассажа и среди клеток эутопического эндометрия, полученного у женщин без Э, представлен в таблице 15.

Культивируемые клетки, выделенные из контрольного и эутопического эндометрия характеризовались гомогенностью по морфологии и способности адгезии к пластику и фенотипически различались между собой только по содержанию $CD90^+$-клеток. Доли клеток, экспрессирующих остальные исследованные маркеры, между группами не различались. Фенотипическая характеристика клеточного состава культивируемых клеток, которые были выделены из эктопических эндометриоидных очагов, значительно отличалась от характеристики клеток эутопического эндометрия как у тех же пациенток, так и в группе контроля. На клетках из эндометриоидных очагов максимально были представлены CD90 и CD26 и минимально - маркеры CD105 и CD146. Во всех культурах было одинаковым количество $CD73^+$-клеток. Анализ данных указывает на принадлежность исследованных клеток преимущественно к популяции мезенхимальных стромальных клеток.

Таблица 15. Фенотип клеток, выделенных из тканей эутопического эндометрия и эндометриоидных очагов пациенток с Э (Me, (25 – 75 процентили)).

| Маркер по системе CD | Количество позитивных клеток, % | | |
|---|---|---|---|
| | среди клеток контрольного эндометрия (n=8) | среди клеток эутопического эндометрия (n=21) | среди клеток очагов эндометриоза (n=21) |
| CD90 - мембранный гликопротеин суперсемейства Ig, | 67,1 (36,5-69,9) | 26,8 (18,3-46,9) * | 72,5 (65,7-86,7) *,** |
| CD26 - мембранный гликопротеин семейства пептидаз | 27,3 (9,3-39,8) | 29,9 (18,8-38,4) | 80,4 (64,8-86,5) *,** |
| CD73 - экто-5′нуклеотидаза | 92,6 (88,9-98,4) | 97,6 (89,6-99,4) | 96,4 (92,5-98,9) |
| CD105 - эндоглин | 52,5 (17,3-73,9) | 66,6 (32,7-85) | 14 (7,5-19,5) ** |
| CD146 гликопротеин MUC18 | 38,5 (32-79) | 33,7 (19,9-43,4) | 1,2 (0,4-2,5) *,** |

Примечание. * - различия с контролем по критерию Манн-Уитни значимы при $p<0,05$.** - различия в содержании позитивных клеток среди клеток эутопического и эктопического эндометрия по критерию Манн-Уитни значимы при $p<0,01$.

При исследовании белкового профиля супернатантов второго пассажа культур клеток, выделенных из эутопического эндометрия и эндометриоидных гетеротопий, определяли концентрации цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-1ra, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12p70, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17A, ИФН-γ, ФНОα), хемокинов (ИЛ-8, MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, IP-10, RANTES, Eotaxin) и ростовых факторов (ИЛ-7, ИЛ-9, CSF, ГМ-КСФ, PDGF-bb, СЭФР, FGF basic). Результаты оценки продукции исследованных маркеров в супернатантах культур эутопического эндометрия пациенток контрольной группы представлены в таблице 16.

Таблица 16. Концентрации белков, продуцируемых культивируемыми клетками из эндометрия пациенток контрольной группы (n=8)

| Группа белков | Наименование белка | Концентрация белка, пг/мл/$10^6$кл Me (25 – 75 процентили) |
|---|---|---|
| цитокины | ИЛ-1β | 5,4 (2,6-7,6) |
| | ИЛ-1ra | 55 (43-114) |
| | ИЛ-2 | 7,5 (5,1-10,3) |
| | ИЛ-4 | 2,9 (2,7-5,0) |
| | ИЛ-5 | 4,6 (4,1-8,3) |
| | ИЛ-6 | 1786 (1314-5876) |
| | ИЛ-10 | 18,2 (14,4-25,4) |
| | ИЛ-12p70 | 200 (43-259) |
| | ИЛ-13 | 6,8 (6,2-13,3) |
| | ИЛ-15 | 12,9 (8,5-22,1) |
| | ИЛ-17A | 70 (29-125) |
| | ИФН-γ | 87 (65-115) |
| | ФНОα | 36 (29-71) |
| хемокины | ИЛ-8 | 2734 (2296-10210) |
| | MCP-1 | 690 (44-1816) |
| | MIP-1α | 6,0 (5,4-8,4) |
| | MIP-1β | 4,5 (3,9-7,8) |
| | IP-10 | 106 (50-419) |
| | RANTES | 44 (27-193) |
| | Eotaxin | 29 (24-53) |
| факторы роста | ИЛ-7 | 14 (9-29) |
| | ИЛ-9 | 6,7 (4,7-10,8) |
| | G-CSF | 7,3 (6,1-37,9) |
| | ГМ-КСФ | 63 (39-152) |
| | PDGF-bb | 59 (40-179) |
| | FGF basic | 108 (53-1057) |
| | СЭФР | 5243 (620-7431) |

Обращает на себя внимание высокий уровень концентрации ИЛ-6, хемокинов ИЛ-8 и MCP-1, а также сосудисто-эндотелиального фактора роста (СЭФР).

Результаты анализа профиля изученных белков в супернатантах клеток эутопического эндометрия пациенток с НГЭ по сравнению с профилем белков в супернатантах клеток эндометрия пациенток контрольной группы представлены на рис 4-6.

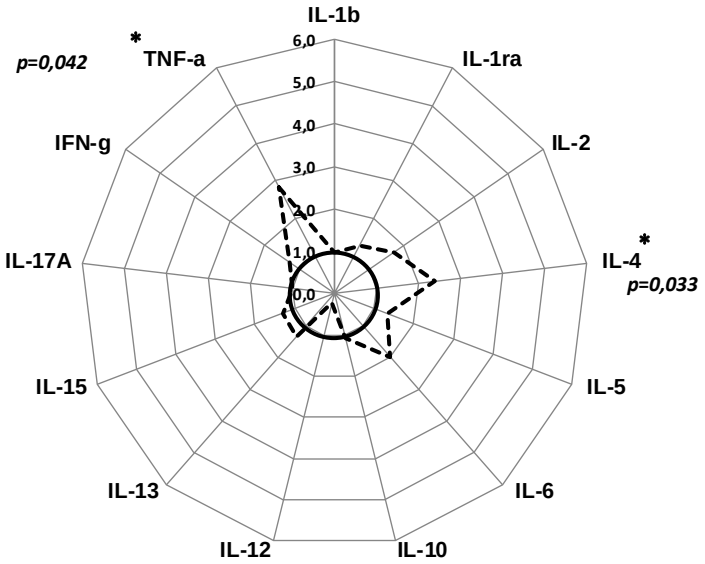



Рис. 4. Сравнительная характеристика профиля цитокинов, продуцированных in vitro клетками эутопического эндометрия пациенток с наружным генитальным эндометриозом. Данные на диаграмме, отложенные по осям, представлены как отношение медианы концентрации конкретного белка в супернатантах клеток эутопического эндометрия пациенток с НГЭ к концентрации в супернатантах клеток эндометрия пациенток контрольной группы. Сплошной линией показан уровень равенства значений.

* - показатели, достоверно отличающиеся от контрольных значений.

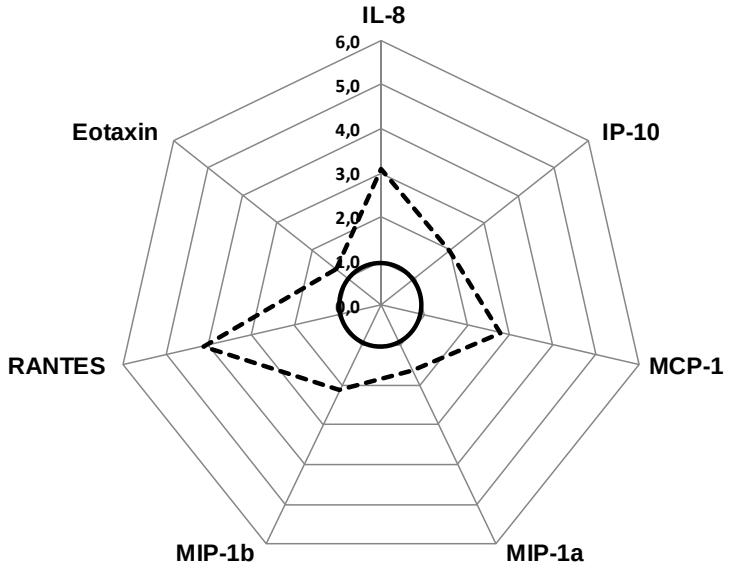


Рис. 5. Сравнительная характеристика профиля хемокинов, продуцированных in vitro клетками эутопического эндометрия пациенток с наружным генитальным эндометриозом. Данные на диаграмме, отложенные по осям, представлены как отношение медианы концентрации конкретного белка в супернатантах клеток эутопического эндометрия пациенток с НГЭ к концентрации в супернатантах клеток эндометрия пациенток контрольной группы. Сплошной линией показан уровень равенства значений.

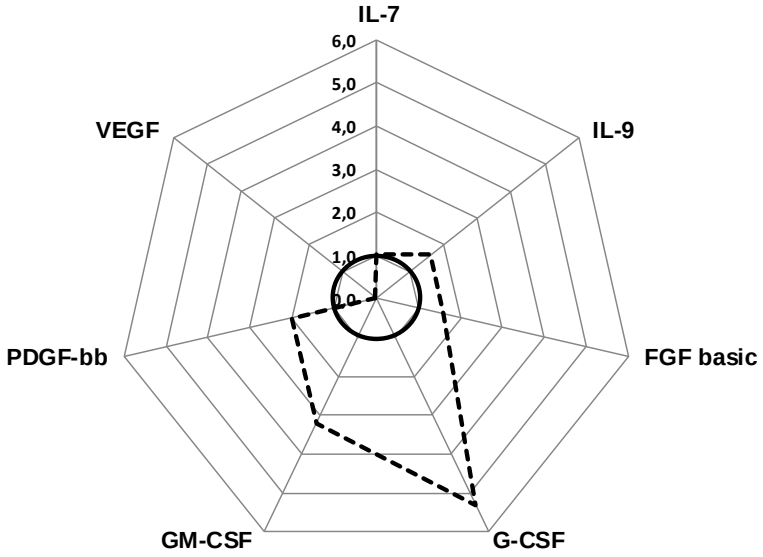



Рис. 6. Сравнительная характеристика профиля ростовых факторов, продуцированных in vitro клетками эутопического эндометрия пациенток с наружным генитальным эндометриозом. Данные на диаграмме, отложенные по осям, представлены как отношение медианы концентрации конкретного белка в супернатантах клеток эутопического эндометрия пациенток с НГЭ к концентрации в супернатантах клеток эндометрия пациенток контрольной группы. Сплошной линией показан уровень равенства значений.

Концентрация факторов роста и хемокинов в супернатантах культур клеток эутопического эндометрия и клеток контрольного эндометрия не отличались. При исследовании уровня цитокинов обнаружена увеличенная продукция клетками эутопического эндометрия ФНО-α (Me 102, 38-206 и Me 36, 29-71, соответственно, $p$=0,042) и ИЛ-4 (Me 6,9, 3,5-12,9 и Me 2,9, 2,7-5,0, соответственно, $p$=0,033).

Результаты анализа профиля растворимых белков в супернатантах культур клеток из очагов эндометриоза пациенток с НГЭ по сравнению с их

профилем в супернатантах клеток контрольного эндометрия представлены на рис. 7.

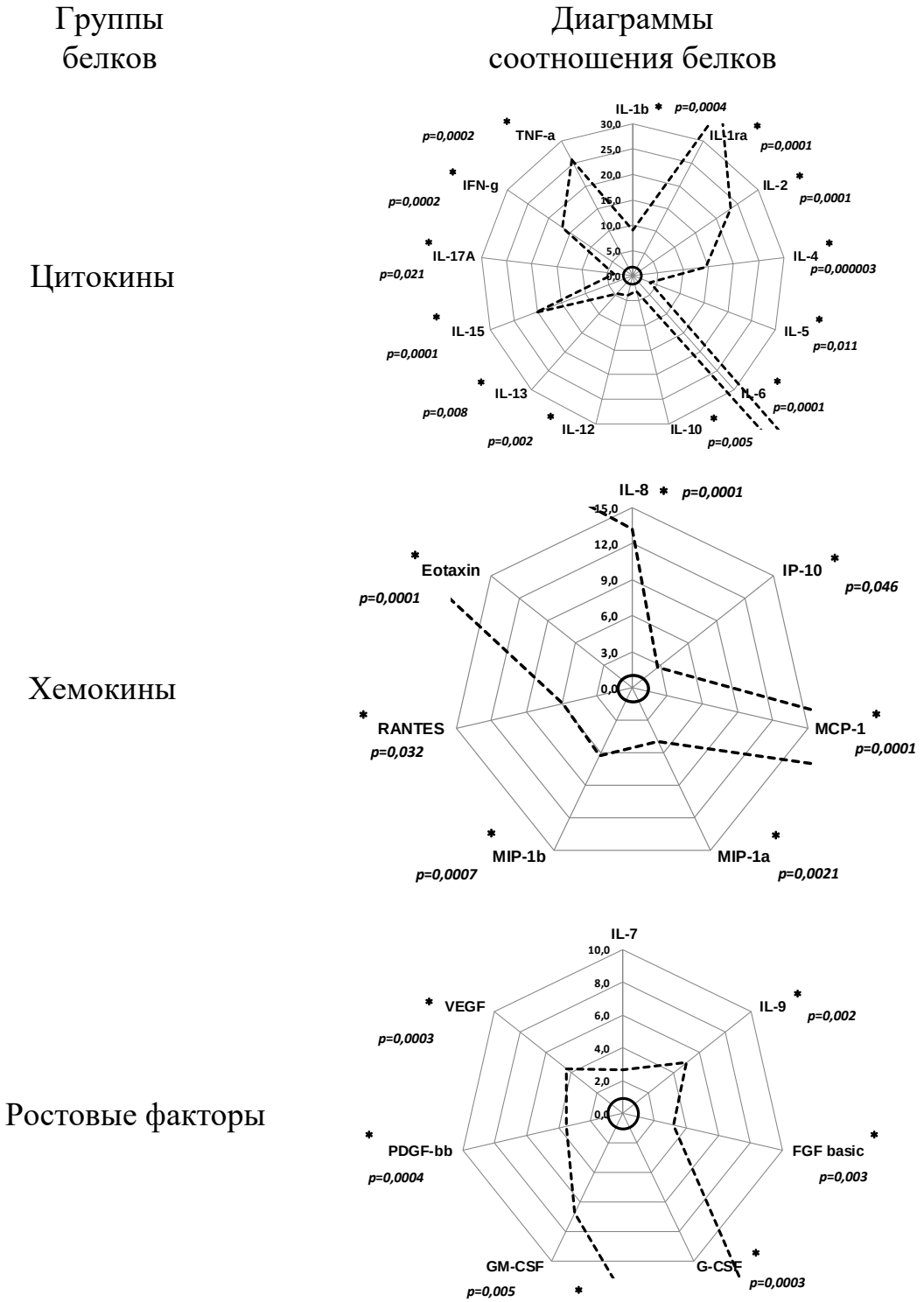



Рис. 7. Сравнительная характеристика профиля ростовых факторов, продуцированных in vitro клетками эктопического эндометрия пациенток с наружным генитальным эндометриозом и контрольного эндометрия. Данные на диаграммах, отложенные по осям, представлены как отношение медианы

концентрации конкретного белка в супернатантах культур клеток из очагов эндометриоза к концентрации в супернатантах клеток контрольного эндометрия. Сплошной линией показан уровень равенства значений.

* - Показатели, достоверно отличающиеся от контрольных значений.

В супернатантах культур клеток из очагов эндометриоза концентрация всех исследованных белков значительно превышает контрольные значения, при этом концентрация ИЛ-6 выше в 213 раз, хемокина эотаксина - в 65 раз, хемокина MCP-1- в 50 раз, фактора роста G-CSF – в 66 раз.

Сравнительный анализ концентрации исследованных белков в супернатантах культур клеток из эндометриоидных гетеротопий и эутопического эндометрия пациенток с НГЭ представлен на рис.3.3.5.

Полученные данные указывают, что концентрация исследованных цитокинов была существенно выше в супернатантах культур клеток из эндометриоидных гетеротопий (ИЛ-6 – в 42,3 раза). Концентрация хемокинов также была выше (MIP-1b - в 36 раз), но отсутствовали различия в концентрации IP-10 и RANTES. Также существенно выше была концентрация ряда факторов роста, в частности СЭФР, но отсутствовали различия в концентрации G-CSF, ГМ-КСФ, PDGF-bb (рис. 8).

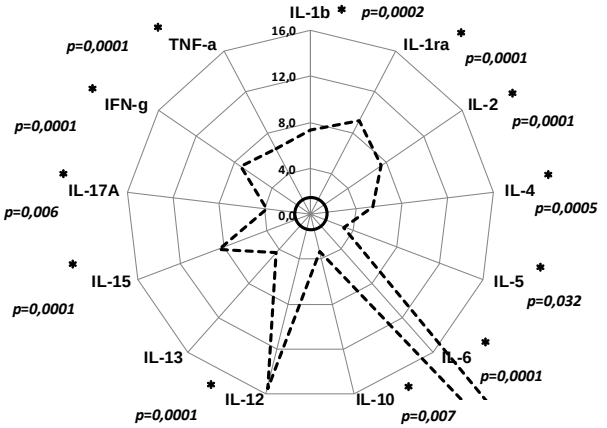
Таким образом, проведение данного фрагмента исследования показало, что при глубоком инфильтративном эндометриозе имеет место повышение активации клеток из эктопических очагов, продуцирующих цитокины различной функциональной направленности, хемокины и факторы роста, опосредующие различные аспекты клеточных взаимодействий, способствующие воспалительному процессу, ангиогенезу и пролиферации клеток. В эутопическом эндометрии при эндометриозе по сравнению с эндометрием женщин без эндометриоза при отсутствии различий в продукции большинства цитокинов, факторов роста и хемокинов имеет место избирательное увеличение выработки фактора некроза опухоли-α и интерлейкина-4, что указывает на преимущественную активацию гуморального звена иммунной системы и согласуется с полученными в

настоящем исследовании результатами повышенной продукции различных типов аутоантител.

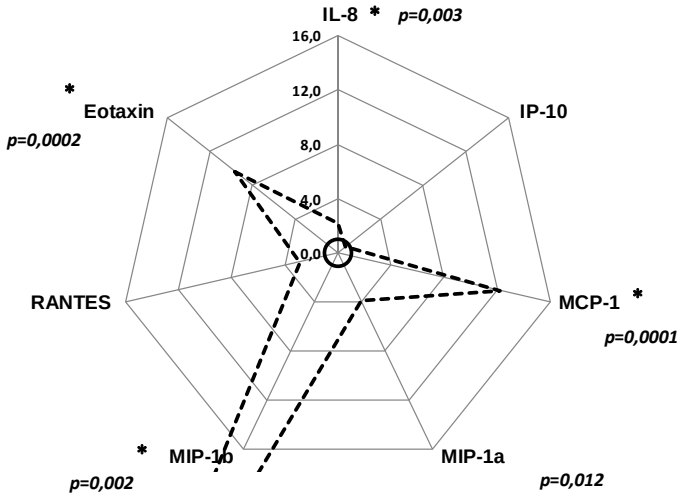
Группы белков

Диаграммы соотношения белков

Цитокины




Хемокины




Ростовые факторы

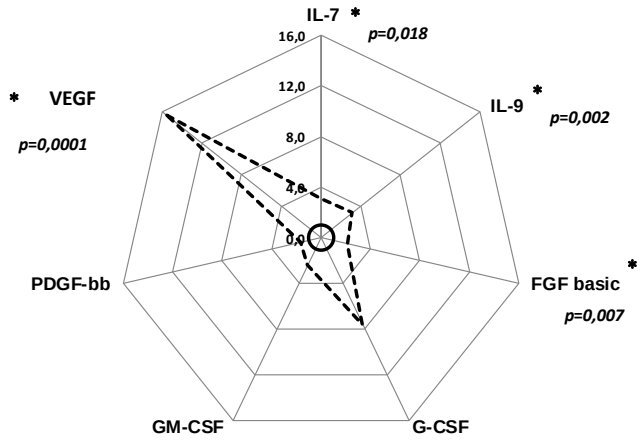



Рис. 8. Сравнение уровней продукции белков *in vitro* клетками из очагов эндометриоза и эутопического эндометрия пациенток с НГЭ.

Данные на диаграммах, отложенные по осям, представлены как отношение медианы концентрации конкретного белка в супернатантах культур клеток из очагов эндометриоза к концентрации в супернатантах клеток эутопического эндометрия. Сплошной линией показан уровень равенства значений.

* - Показатели, достоверно отличающиеся в супернатантах клеток эндометриоидных гетеротопий и эутопического эндометрия.

# ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последнее десятилетие было проведено много исследований по изучению патобиологии эндометриоза, однако до сих пор остается открытым вопрос ранней диагностики заболевания, что позволяет предотвратить обширное распространение патологического процесса и последующих осложнений. Постановка диагноза затруднена из-за отсутствия тестов с высокой диагностической точностью, а на основании клинических симптомов крайне сложно поставить точный диагноз, так как зачастую они совпадают с другими гинекологическими заболеваниями. Отсроченная постановка диагноза влияет на психоэмоциональное состояние женщины, снижает качество жизни и физическую активность, приводит к увеличению объема оперативного вмешательства, ухудшению возможностей восстановления репродуктивной функции [76].

К настоящему времени накоплены убедительные доказательства нарушения разных звеньев иммунного ответа при эндометриозе: снижение активности Т-клеток, цитотоксичности натуральных киллеров, поликлональная активация В-клеток и повышение выработки ими антител, увеличение количества и активности перитонеальных макрофагов, а также изменения в системе комплимента и медиаторов воспаления [85]. Остаются открытыми вопросы, причинно-следственных связей первичности имеющихся нарушений или последствия патологических изменений, обусловленных чрезмерным ростом и функционированием измененных тканей в области эктопического роста эндометрия [146].

Полученные нами результаты согласуются с результатами недавнего исследования, выполненного с использованием ИФА пептидов, соответствующих определенным эпитопам ТМЗ и ТМОД, которые показали, что антитела к этим пептидам могут служить более эффективными биомаркерами для диагностики ранних форм эндометриоза по сравнению с

наиболее часто используемыми маркерами, такими как СА-125 и СА 19-9 [108].

По-видимому, образованию антител к белкам ТМЗ и ТМОД, связывающим актин и регулирующим организацию актиновых филаментов, способствует повышенное содержание этих белков в эндометриоидных клетках, так как они определяют цитоскелетную динамику, подвижность и миграцию клеток, их адгезию на эктопических участках, переход к стационарной морфологии, апоптозу и некрозу, представляющие важные механизмы патогенеза эндометриоза. Образованию антител к гликолитическому ферменту α-енолазе может способствовать повышенная экспрессия этого фермента на поверхности инвазивных эндометриоидных клеток, что обеспечивает активацию плазмина, деградацию внеклеточного матрикса и способствует их инвазии [134].

Повышенное образование антител к стероидным гормонам у больных эндометриозом может быть связано и с избыточной продукцией эстрогенов, которые секретируются яичниками, образуются в периферической жировой ткани, коже и в самой эндометриоидной ткани [47]. Кроме того, при эндометриозе стромальными клетками в гетеротопиях в больших количествах продуцируется прогестерон. Обнаруженное взаимодействие антител с ХГЧ может быть обусловлено наличием антител к общим антигенным детерминантам гонадотропинов, включающих кроме ХГЧ фолликулостимулирующий (ФСГ) и лютеинизирующий (ЛГ) гормоны [8]. Как известно, гонадотропины имеют близкую антигенную структуру, что обусловлено идентичностью α-субъединиц и высокой гомологией аминокислотной последовательности β-субъединиц ХГЧ и ЛГ (85%), ХГЧ и ФСГ (36%). Результаты проведенного нами исследования показали, что у пациенток с эндометриозом статистически значимо чаще обнаруживались антитела к гормонам (Э, ПГ, ХГЧ), эндометриальным антигенам (ТМОД,

ТМЗ) и α-енолазе, при этом вероятность образования данных антител по значениям ОШ была выше в 3,7-8,0 раз, чем у пациенток без заболевания.

У больных эндометриозом с поражением яичников значимо чаще определялись антитела классов М и G к ХГЧ и ТМЗ, IgG-антитела к ТМОД и α-енолазе и IgM-антитела к прогестерону и эстрадиолу, чем в группе контроля. Значимые различия частоты выявления сывороточных аутоантител у пациенток с распространенными формами НГЭ и поражением яичников и с НГЭ без поражения яичников не были показаны. В группе пациенток с эндометриозом без поражения яичника отмечался значимо более высокий уровень IgG-антител к ХГЧ, ЕН, ТМОД и Э, IgM-антител к ПГ, Э, ХГЧ и ТМЗ, чем в группе контроля. У пациенток в подгруппе с распространенным инфильтративным эндометриозом отмечены значимо более высокие уровни IgG-антител к прогестерону и ТМЗ, IgM-антител к ХГЧ и ТМЗ, чем в группе контроля.

Полученные в результате настоящего исследования данные указывают на высокую диагностическую значимостью IgM-антител к ТМОД. Э и ХГЧ, а также IgG-антител к Э для НГЭ с поражением яичников.

Проведенный анализ позволил эффективно дифференцировать пациенток с НГЭ и поражением яичников и женщин группы контроля по уровню IgM-антител к ТМЗ, Э, ХГЧ и IgG-антител к Э, при этом предсказательная способность модели оценивалась как хорошая.

По данным множественного логистического регрессионного анализа, определение комбинации аутоантител, включающей IgM-антитела к ТМЗ и ХГЧ, а также IgG-антитела к α-енолазе, существенно повышало диагностическую значимость антител для НГЭ с поражением яичников.

Анализ данных о диагностической значимости аутоантител для НГЭ без поражения яичников показал высокий уровень диагностической значимости IgM-антител к ТМЗ и ХГЧ, их определение характеризовалось высокими значениями площади под кривой .

IgM-антитела к ТМЗ и ХГЧ показали высокое диагностическое значение при обеих формах НГЭ, как с поражением яичников, так и без него.

Результаты настоящего исследования показали наличие широкого спектра аутоантител у женщин с распространённым наружным генитальным эндометриозом, включающим антитела к эндометриальным антигенам, стероидным и гонадотропным гормонам. У пациенток с эндометриозом отмечается как более высокая частота выявления, так и более высокий уровень IgG-антител к тропомиозину 3, α-енолазе, эстрадиолу и хорионическому гонадотропину человека, по сравнению с здоровыми женщинами. IgG-антитела к тропомиозину 3, α-енолазе и эстрадиолу имеют наиболее высокую диагностическую значимость для эндометриоза, которая существенно повышается при определении комбинации этих антител, что определяет перспективы для их включения в панель биомаркеров для неинвазивной диагностики эндометриоза. Для уточнения диагностической значимости аутоантител у женщин с другими формами и ранними стадиями заболевания необходимо проведение дополнительных исследований с включением соответствующих групп пациентов.

В нашем исследовании был проведен анализ содержания цитокинов, хемокинов и ростовых факторов в культурах клеток из образцов тканей эутопического эндометрия, полученного у пациентов с эндометриозом и без эндометриоза, а также из участков гетеротопического эндометрия при эндометриозе. Для выделенных клеток были характерны хорошая адгезия к поверхности культурального пластика, фибробластоподобная форма и экспрессия антигенов CD90, CD26, CD73, CD105 в сочетании с отсутствием CD45, CD34, CD14, что используется для идентификации мезенхимальных стромальных клеток (МСК) [68]. Это позволило сделать вывод о том, что в культурах второго пассажа преобладали стромальные клетки. Наши результаты согласуются с данными C.Uder и соавт. [98], которые для идентификации МСК использовали сходную панель клеточных поверхностных маркеров (CD105+, CD73+, CD90+, CD34-, CD14-).

Эндометриоз ассоциируется с нарушением экспрессии многих растворимых факторов: молекул адгезии, ростовых факторов, цитокинов, матриксных металлопротеиназ и ферментов синтеза и метаболизма эстрогенов [45]. В систематическом обзоре 2014 г. указывается, что по заключениям ряда исследований хемокины и их рецепторы предлагается рассматривать в качестве потенциальных биомаркеров эндометриоза, особенно ИЛ-8, MCP-1, CCL-2, RANTES или CCL5 [45]. Поскольку известно, что уровень ИЛ-8 увеличивается при любых воспалительных процессах, то данный маркер скорее является биомаркерам воспалительного процесса, что подтверждает роль воспаления в патогенезе эндометриоза.

Исследование механизмов патогенеза и поиск дополнительных диагностических маркеров необходимы для разработки ранней неинвазивной диагностики и патогенетической терапии данного заболевания.

Большое количество работ в последние годы посвящено анализу содержания цитокинов в сыворотке крови пациенток с эндометриозом, определяемого различными методами. Обнаружено повышенное содержание ИЛ-1, ИЛ-6 [45, 68, 152]. По мнению одних исследований, маркерным для данной патологии может быть повышенный уровень противовоспалительных цитокинов ИЛ-1Ra, ИЛ-4 и ИЛ-10 и повышенный уровень ключевых провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, и ФНО-α [117].

В этой связи изучение патогенеза эндометриоза часто проводится с использованием экспериментальных моделей, в частности, *in vitro*. Описаны процедуры создания и поддержания первичных культур клеток поверхностного эпителия яичников, трубного эпителия и эндометрия человека, протоколы для иммортализации, клональной изоляции и сокультивирования со стромальными клетками, что может быть полезно для исследования молекулярной и клеточной функции этих видов эпителия в норме и при патологии.

Перспективным направлением представляется сравнительное исследование фенотипа и функциональной активности при культивировании

*in vitro* клеток из эутопического эндометрия и очагов эндометриоза различной локализации.

Анализ содержания ряда (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИФН-γ, ФНО и СЭФР-А) цитокинов в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом выявил ассоциацию с наличием эндометриоза повышенного уровня ИЛ-6 и ИЛ-8 [111], повышенного уровня ИЛ-6, ИЛ-18, эотаксина и MCP-1 независимо от фазы менструального цикла [41], повышенного уровня ИЛ-6 и ТФР-β, но без различий с контролем в содержании ИЛ-10 и ИЛ-17.

В эксперименте *in vitro* было показано, что ИЛ-17 увеличивает секрецию ИЛ-8 эндометриоидными стромальными клетками и тем самым стимулирует появление очагов эндометриоза [91]. ИЛ-17А – важный ангиогенный и провоспалительный цитокин, вовлекаемый в патофизиологию хронических воспалительных заболеваний. Иммуногистохимически определена локализация ИЛ-17А в строме образцов эутопического эндометрия и из эндометриоидных очагов и показана различная экспрессия его в этих типах тканей. Стимуляция *in vitro* эндометриальных стромальных клеток, клеток Ishikawa и HUVEC этим цитокином приводила к значительному увеличению ангиогенных СЭФР и ИЛ-8, провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-1β, хемокинов G-CSF, CXCL12, CXCL1 и CX3CL1. Хирургическое удаление эктопических очагов приводило к резкому снижению системного уровня данного цитокина, авторы делают вывод о том, что эндометриоидные очаги продуцируют факторы, которым принадлежит важная роль в обеспечении ангиогенного и провоспалительного окружения в брюшной полости при возникновении и поддержании эктопических очагов [82; 110].

В эксперименте с культивированием макрофагов, выделенных из перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом и стимулированных *in vitro* липополисахаридом, обнаружен одинаковый с контролем уровень секреции макрофагами ИЛ-1β при повышенном уровне его в перитонеальной жидкости пациенток. Был сделан вывод о том, что нарушение в уровне продукции цитокинов семейства ИЛ-1 является важным патогенетическим

фактором в развитии эндометриоза. Этот вывод подкрепляется экспериментальными данными, показавшими что ИЛ-1β, стимулирующий катаболизм триптофана, через увеличение экспрессии триптофан-2,3-диоксигеназы (ТДО) усиливает продукцию ИЛ-6 and ИЛ-8 эндометриальными стромальными клетками [91]. Обнаружено, что добавление ИЛ-1β в культуру стромальных клеток из эндометриоидных очагов и из эутопического эндометрия увеличивало освобождение СЭФР в обоих типах культур, равно как и в контроле, через увеличение экспрессии циклооксигеназы-2 (COX-2) – фермента, который экспрессируется макрофагами, фибробластами и эндотелиальными клетками, индуцируется цитокинами или факторами роста при воспалении.

При проведении мультиплексного анализа нами был выявлен различный уровень продукции *in vitro* большого спектра исследованных белков клетками из эутопического эндометрия и очагов эндометриоза при сравнении с контролем. Наши результаты показали, что продукция белков клетками из эутопического эндометрия у женщин с эндомтериозом отличалась от контроля более высоким уровнем ФНО-α и ИЛ-4 (цитокинов, отражающих процессы клеточной активации), но не имела отличий по продукции хемокинов и ростовых факторов, характеризующих соответственно межклеточное взаимодействие и пролиферативную активность. Функциональное состояние *in vitro* клеток, выделенных из эктопических очагов пациенток с НГЭ, существенно отличалось от клеток и нормального, и эутопического эндометрия по продукции всех исследованных цитокинов, хемокинов и ростовых факторов. Наиболее значительным превышение концентрации было у ИЛ-6, эотаксина, хемокина MCP-1 и ростовых факторов G-CSF и СЭФР.

Таким образом, полученные нами результаты исследования продукции *in vitro* широкого спектра белков, характеризующих функциональное состояние стромальных клеток, выделенных из эутопического эндометрия и эктопических очагов эндометриоза, указывают на состояние повышенной активации клеток из эктопических очагов,

продуцирующих в культуральную среду цитокины различной функциональной направленности, хемокины и ростовые факторы и в целом согласуются с уже опубликованными данными. Полученные результаты свидетельствуют о существенном вкладе в патогенез эндометриоза растворимых факторов, опосредующих разные аспекты клеточных взаимодействий, способствующих воспалительному процессу, ангиогенезу и пролиферации клеток.

На сегодняшний день отсутствуют сведения о наличии отбора наивных В-лимфоцитов, не реагирующих на собственные антигены, аналогичного отбору наивных Т-лимфоцитов в тимусе. В то же время формирование клонов В-лимфоцитов, продуцирующих антитела к специфическим антигенам требует образования в тимусе Т-лимфоцитов с хелперной функцией из наивных клеток, активированных теми специфичными эпитопами антигенов, на которые будут формироваться клоны В-лимфоцитов. Поскольку тимический отбор направлен на исключение аутоантиген-специфичных Т-лимфоцитов, то это является причиной невозможности развития аутоантительного В-клеточного ответа. Однако наличие такого естественного механизма не исключает возможности стимуляции появления при инфекции и воспалительных процессах аутоспецифических В-клеток за счет цитокинового фона, порождаемого формированием ответа на чужеродные антигены. Интенсивный рост эндометриальных клеток за пределами их естественной локализации способствует нарушениям нормального функционирования тех тканей, в которые идет инвазия. При распространенных формах НГЭ данные изменения могут сопровождаться существенными повреждениями инвазируемых тканей вплоть до развития интенсивных воспалительных реакций. Порожденный воспалительными реакциями цитокиновый выброс способен обеспечить необходимый фон для активации специфических лимфоцитов в прилежащих периферических лимфоидных органах (узлах). Результаты проведенного нами сравнительного исследования продукции цитокинов *in vitro* клетками из

аутологичного эндометрия и эндометриоидных гетеротопий подтверждают правомочность данного обобщения, поскольку указывают на интенсивную продукцию цитокинов эктопическими клетками.

Отсутствие костимуляции В-лимфоцитов со стороны Т-хелперов, поддерживающих формирование аутоспецифичных В-лимфоцитов, определяет временный, преходящий период продуцирования аутоантител активированным В-клеточным клоном. В связи с этим уровень аутоантител, выявляемых при распространенных формах НГЭ, не является высоким, но сам факт их выявления у пациенток с эндометриозом может отражать распространенный характер процесса.

# ВЫВОДЫ

1. Глубокий инфильтративный эндометриоз характеризуется длительным течением заболевания и высокой частотой рецидивирования. Клинические проявления заболевания характеризуются неспецифичностью симптомов. При этом тазовая боль является наиболее значимым проявлением глубокого инфильтративного эндометриоза.

2. У пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом отмечается более высокая частота выявления и более высокий уровень аутоантител (M, G) к Э, ПГ, ХГЧ, ТПМ, ТМОД и ЕНО (28,4–50%) по сравнению с женщинами без эндометриоза.

3. Наибольшей диагностической значимостью при диагностике глубокого инфильтративного эндометриоза обладают IgM-антитела к тропомиозину-3, ХГЧ и эстрадиолу. Диагностическая значимость существенно повышается при определении комбинации указанных антител.

4. Пациенты с глубоким инфильтративным эндометриозом с поражением яичника характеризуются значимо более высокими уровнями IgG-антител к прогестерону, эстрадиолу и тропомодулину по сравнению с пациентами с распространенным наружным генитальным эндометриозом без поражения яичников.

5. Наружный генитальный эндометриоз характеризуется повышением активации клеток из эктопических очагов, продуцирующих цитокины, хемокины и факторы роста, опосредующие разные аспекты клеточных взаимодействий, способствующих воспалительному процессу, ангиогенезу и клеточной пролиферации. Максимальные различия концентрации в супернатантах культур клеток из очагов эндометриоза по сравнению с контролем выявлены для ИЛ-6 (в 213 раз), хемокина эотаксина (в 65 раз), хемокина MCP-1 (а) (в 50 раз), ростового фактора G-CSF (в 66 раз).

6.Эутопический эндометрий у пациентов при глубоком инфильтративном эндометриозе по сравнению с эндометрием у женщин без эндометриоза

характеризуется избирательным увеличением выработки фактора некроза опухоли-α и ИЛ-4.

# ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕДАЦИИ

1. Для своевременной диагностики глубокого инфильтративного эндометриоза у пациентов с синдромом тазовой боли, диспареунией, нарушениями менструального цикла и бесплодием показано проведение комплексного обследования с использованием визуализирующих методов обследования и колоноскопии.
2. При проведении комплексной диагностики распространенных форм наружного генитального эндометриоза рекомендуется определение комбинации аутоантител (IgM к тропомиозину 3 и ХГЧ; IgM к тропомиозину 3 и эстрадиолу; IgM к тропомиозину 3 и IgG к эстрадиолу) в периферической крови.
3. При обследовании и ведении пациентов с глубоким инфильтративным эндометриозом без поражения яичников рекомендуется определение аутоантител: IgM-антител к тропомиозину 3 и ХГЧ в связи с их высокой диагностической значимостью при этой форме заболевания.

# СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

| | | |
|---|---|---|
| ANA | - | антинуклеарные антитела |
| Api6 | - | ингибитор апоптоза 6 |
| BDCA1+ | - | миелоидные дендритные клетки |
| BLyS | - | фактор активации В-клеток |
| CD204 | - | скавенджер-рецепторы |
| COX-2 | - | циклооксигеназа |
| DC | - | дендритные клетки |
| E2 | - | простагландин Е2 |
| F2a | - | простагландин F2a |
| FGF | - | фактор роста фибробластов |
| GM-CSF | - | гранулоцитарный макрофагальный колониестимулирующий фактор |
| HBsAg | - | поверхностный антиген вируса гепатита |
| HCV | - | вирус гепатита С |
| HIF-1a | - | фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа |
| HSV | - | вирус простого герпеса |
| HUVEC | - | эндотелиальные клетки пупочной вены человека |
| IFN-γ | - | интерферон гамма |
| IgG | - | иммуноглобулин |
| IL | - | интерлейкин |
| Ip-10 | - | интерферон-γ – продуцируемый глобуллин-10 |
| KAR | - | поверхностный активирующий рецептор |
| KIR | - | поверхностный нгибирующий рецептор |
| LFA-1 | - | мембранный белок |
| MBL | - | маннозо-связывающий лектин |
| MCP-1 | - | моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1-го типа |
| MIP | - | макрофагальный белок воспаления |
| MMP | - | матриксная металлопротеиназа |
| NF-κB | - | транскрипционный фактор NF-κB |
| NK | - | естественные киллеры |
| NKG2D | - | трансмембранный белок |
| PDGF-bb | - | тромбоцитарный фактор роста |
| PGE2 | - | простагландин Е2 |
| PON1 | - | супероксиддисмутазы параоксоназы |
| RANTES | - | хемокин, экспрессируемый и секретируемый Т-клетками при активации |
| sICAM-1 | - | молекулы межклеточной адгезии-1 |
| SPM | - | малые перитонеальные макрофаги |

| | | |
|---|---|---|
| TGF-β | - | трансформирующий фактор роста |
| Th | - | Т-хелпер |
| TLR | - | Толл-подобные рецепторы |
| TNF-α | - | фактор некроза опухоли |
| VCAM-1 | - | молекула адгезии сосудистых клеток 1 |
| VEGF | - | сосудисто-эндотелиальный фактор роста |
| β2-ГП-I | - | антитела к В-2 гликопротеину |
| АД | - | артериальное давление |
| аЕН | - | антитела к альфа-енолазе |
| аСТ | - | антитела к синтаксину |
| аТМОД-3 | - | антитела к тропомодулину-3 |
| аТМЗ | - | антитела к тропомиозину |
| ГИЭ | - | глубокий инфильтративный эндометриоз |
| ДГЭАС | - | дегидроэпиандростерона сульфат |
| ДК | - | дендритные клетки |
| ИМТ | - | индекс массы тела |
| ИППП | - | инфекции, передающиеся половым путем |
| ИФА | - | иммуноферментный анализ |
| ИЭ | - | инфильтративный эндометриоз |
| КЛ | - | кардиолипин |
| ЛГ | - | лютеинизирующий гормон |
| мАт | - | моноклональные антитела |
| МРТ | - | магнитно-резонансная терапия |
| МСКТ | - | мультиспиральная компьютерная томография |
| МСР-1 | - | хемоаттрактантный белок-1 |
| НГЭ | - | наружный генитальный эндометриоз |
| ОП | - | оптическая плотность |
| ПГ | - | прогестерон |
| СКВ | - | системная красная волчанка |
| ТДО | - | триптофан диоксигеназа |
| ТМБ | - | тетраметилбензидин |
| ТМЗ | - | тропомиозин |
| ТМОД | - | тропомодулин 3 |
| УЗИ | - | ультразвуковое исследование |
| ФСГ | - | фолликулостимулирующий гормон |
| ХГЧ | - | хорионический гонадотропин человека |
| Э | - | эндометриоз |
| ЭКО | - | экстракорпоральное оплодотворение |
| ЭЯ | - | эндометриоз яичников |

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


1. Адамян, Л.В. Клинические рекомендации по эндометриозу / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н. Андреева // Руководство для врачей изд. 2. - М. -2006. -411с.
2. Адамян, Л.В. Состояние репродуктивной системы у больных доброкачественными опухолями внутренних гениталий и принципы восстановительного лечения: Автореф. дис. …докт. мед. наук. – М., 1985.
3. Антипрогестероновые антитела в клинике привычной потери беременности / И.В. Менжинская, К.А. Гладкова, В.М. Сидельникова, [и др.] //Журнал Иммунология. -2008. – Т. 29 №1. - 34-37.
4. Андреева, Е.Н. Хроническая тазовая боль при эндометриозе у женщины в репродуктивном возрасте / Е.Н. Андреева, Е.В. Шереметьева // Проблемы репродукции. - 2021. -Т. 27, №1. - С. 46 –52.
5. Бурлев, В.А. Ангиогенез и ангиогенные факторы роста в регуляции репродуктивной системы у женщин / В.А. Бурлев, С.В. Павлович // Проблемы репродукции. - 1999. -Т. 5, №5. - С. 6 –13.
6. Значение протеомного анализа перитонеальной жидкости в выяснении патогенеза эндометриоза / Л.Р. Томай, В.О. Гунько, Т.Н. Погорелова, [и др.] //Проблемы репродукции. - 2014. - Т. 20, №2. - С. 52–56.
7. Иммунологические аспекты эндометриоза: обзор литературы / Л.В. Адамян, К.Н. Арсланян, О.Н. Логинова, [и др.] // Лечащий врач. - 2020. - №4. - С.37-47.
8. Иммунохимические свойства аутоантител к хорионическому гонадотропину у женщин с невынашиванием беременности / И.В. Менжинская, М.М. Кашенцева, Л.В. Ванько, [и др.] // Журнал Иммунология. – 2015. –Т. 36 №1. – С. 30-35.
9. Использование иммуномодулирующей терапии у женщин с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза / А.К. Красильникова, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2014. - Т.14 №3. – С. 25 –28.
10. Кира, Е.Ф. Эндометриоидная болезнь / Е.Ф. Кира, Ю.В. Цвелев // Гинекология: Руководство для врачей. / Под ред. В.Н. Серова, Е.Ф. Кира. – М.: Литера, 2008. – 840 С.
11. Киселева, Е.П. Новые представления о противоинфекционном иммунитете/ Е.П. Киселева // Инфекция и иммунитет 2011. - Т.1, №1. - С. 9. –14.
12. Клеточные и молекулярные факторы врожденного иммунитета в патогенезе наружного генитального эндометриоза у женщин (обзор

литературы) / Т.Д. Короткова, Л. В. Адамян, А. А. Степанян [и др.] // Проблемы репродукции. - 2018. - Т. 24, №6. - С. 22. –31.

13. Клиника и диагностика генитального эндометриоза / М.И. Ярмолинская, Е.И, Русина, А.Р. Хачатурян, [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. -2016. -Т.65, №5. - С.4-21.
14. Коваль, Г.Д. Обоснование подходов к лечению бесплодия у женщин с эндометриозом в зависимости от иммунологических показателей / Г.Д. Коваль // Universum медицина и фармакология 2015. - Т. 7-8, №19. - С. 9.
15. Нарушения системных реакций врожденного иммунитета у пациенток с бесплодием и эндометриозом I-II стадии и возможность их коррекции препаратом Ликопид / Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова, А.И. Малышкина, [и др.] // Иммунология. - 2016. - Т. 37, №1. - С.17. –21.
16. Оценка содержания и патогенетической роли цитокинов перитонеальной жидкости у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом / Д.З. Цицкарева, М.И. Ярмолинская, А.В. Селютин, [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. - 2017. - Т. 66, №1. - С. 38. –45.
17. Пашков, В.М. Современные представления об этиологии и патогенезе генитального эндометриоза / В.М. Пашков, В.А. Лебедев // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2007. - Т. 6, №3. - С. 52–61.
18. Попова, О.С. Клетки иммунной системы как биомаркеры в диагностике эндометриоза/ О.С. Попова // Проблемы репродукции 2019. - Т. 25, №2. - С.8. –15.
19. Прогнозирование эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с «малыми» формами генитального эндометриоза – от теории к практике / А.К. Красильникова, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2020. - №11. - С. 100. – 106.
20. Роль генетических полиморфизмов генов VEGF, COX2, MUC в развитии эндометриозассоциированного бесплодия / Н.В. Куликова, И.И. Коваленко, Д.В. Байбуз, [и др.] // Гинекология. - 2019. - Т.21, №2. - С. 34. –37.
21. Сельков, С.А. Цитокины как маркеры для неинвазивной диагностики генитального эндометриоза. / М.И. Ярмолинская, Д.З. Цицкарава, С.А. Сельков // ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта». - 2015. - Т. 64. -№6. - С.6 -16.
22. Старцева, Н.В. Клинические иммунологические аспекты генитального эндометриоза / Н.В. Старцева // Акушерство и гинекология. – 1980. - №3. - С. 23. –26.
23. Субпопуляционный состав лимфоцитов у женщин с генитальным эндометриозом / Д.А. Мусаходжаева, Т.У. Арипова, Г.З. Ешимбетова, [и др.] // Журнал теоретической и клинической медицины. - 2018. - № 1. - С. 79. –82.

24. Фролова, М.С. Роль ростовых факторов в патогенезе эндометриоза / М.С. Фролова // Журнал акушерства и женских болезней. - 2019. – Т. 68, №3. - С. 71–80.
25. Чантурия, Т.З. Роль иммунологических факторов при развитии различных форм эндометриоза / Т.З. Чантурия //Актуальные проблемы медицины и биологии. -2018. -№3. - С. 25 –30.
26. Экспрессия скевенджер рецепторов перитонеальными макрофагами при наружном генитальном эндометриозе / Ю.С. Анциферова, Л.В. Посисеева, Н.Ю. Сотникова, [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2012. - №2. - С. 46. –50.
27. Ярмолинская, М.И. Генитальный эндометриоз. Различные грани проблемы / М.И. Ярмолинская, Айламазян Э.К.// Эко-Вектор. - 2017. - 615 С.
28. “What do we know about regulatory T cells and endometriosis? A systematic review” / I.B.L. de Barros, H. Malvezzi, B.Y. Gueuvoghlanian-Silva, [et al.] // J Reprod Immunol. - 2017.- Vol. 120. – P. 48. – 55.
29. A functional promoter polymorphism in NFKB1 increases susceptibility to endometriosis / B. Zhou, L. Rao, Y. Peng, [et al.] // DNA Cell Biol.- 2010.- Vol. 29 №5. - P. 235. –239.
30. Abnormal peritoneal regulation of chemokine activation-The role of il-8 in pathogenesis of endometriosis / J. Sikora, M. Smycz-Kubańska, A. Mielczarek-Palacz, [et al.] // Am J Reproduction Immunology. - 2017.- Vol. 77, №4. https://doi.org/10.1111/aji.12622
31. Abnormal regulation of chemokine TECK and its receptor CCR9 in the endometriotic milieu is involved in pathogenesis of endometriosis by way of enhancing invasiveness of endometrial stromal cells / Y. Wang, J. Yu, X. Luo, [et al.] // Cell Mol Immunology. - 2010.- Vol. 7, №1. -P. 51. –60.
32. ACOG Committee on Practice Bulletins--Gynecology. ACOG Practice Bulletin No. 51. Chronic pelvic pain. Obstet Gynecol. 2004 - Vol. 103 – P. 589-605.
33. Addition of MCP-1 and MIP-3β to the il-8 appraisal in peritoneal fluid enhances the probability of identifying women with endometriosis / G.M. Borrelli, A.M. Kaufmann, M.S. Abrão, [et al.] // J Reproduction Immunology. -2015.- Vol. 109.- P. 66. – 73.
34. Additional B-cell deficiency does not affect growth and angiogenesis of ectopic human endometrium in T-cell-deficient endometriosis mouse models during long-term culture / L. Söhngen, M. Schmidt, P. Wimberger, [et al.] //J Reproduction Immunology. - 2014. - Vol. 106. - P.50. –57.
35. Alternative activation of macrophages in rhesus macaques (Macaca mulatta) with endometriosis/ K.A. Smith, C.B. Pearson, A.M. Hachey, [et al.] //Comp Med. - 2012. - Vol. 62, №4. - 303. – 310.

36. An association of IgG anti-laminin-1 autoantibodies with endometriosis in infertile patients / J. Inagaki, M. Sugiura-Ogasawara, M. Nomizu, [et al.] // Hum Reproduction. - 2003. -Vol. 18, №3. - P. 544. –549.
37. An endometriosis classification, designed to be validated / P.R. Koninckx, A. Ussia, L. Adamyan, [et al.] // Journal of Gynecologic Surgery. - 2011.-Vol.8. – P.1.-6.
38. An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA-independent pathway / B. Schiemann, J.L. Gommerman, K. Vora, [et al.] // Science 2001.- Vol. 293, №5537. – P. 2111. –2114.
39. An increased level of il-6 suppresses EK cell activity in peritoneal fluid of patients with endometriosis via regulation of SHP-2 expression / Y.-J. Kang, I.C. Jeung, A. Park, [et al.] // Human Reproduction. - 2014.- Vol. 29, №10. – P. 2176. –2189.
40. An overview of the role of neutrophils in innate immunity, inflammation and host-biomaterial integration / G.S. Selders, A.E. Fetz Radic, Bowlin G.L., [et al.] // Regen Biomater. - 2017.- Vol. 4, №1. - P. 55. – 68.
41. Analysis of cytokines in the peritoneal fluid of endometriosis patients as a function of the menstrual cycle stage using the Bio-PlexR platform / N.A. Bersinger, H. Dechaud, B. McKinnon, [et al.] // Physiol. Biochem. - 2012. - Vol.118, №4. - P. 210-218.
42. Association of FCRL3 -169T/C polymorphism with endometriosis and identification of a protective haplotype against the development of the disease in Brazilian population / B. Bianco, J.S. Teles, T.G. Lerner, [et al.] // Human Immunology. - 2011.- Vol. 72, №9. – P.774. –778.
43. Association of HLA class I and class II alleles with susceptibility to endometriosis / J. Kitawaki, H. Obayashi, N. Kado, [et al.] // Human Immunology. - 2002.- Vol. 63, №11. – P.1033. – 1038.
44. Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis / S. Mathur, M.R. Peress, H.O. Williamson, [et al.] // Clinical Exp Immunology. - 1982.- Vol. 50, №2. - P. 259. –266.
45. Borrelli, G.M. Can chemokines be used as biomarkers for endometriosis? / G.M. Borrelli, M.S. Abrao, S. Mechsner // A systematic review. Human Reproduction. - 2014. – Vol. 29, №2. – P. 253-266.
46. Brosens, I. Endometriosis, a modern syndrome / I. Brosens, G. Benagiano // Indian J Med Res [serial online 2011]. -2020 Jan 1.- Vol. 133.-581. –593.
47. Bulun SE. Endometriosis S.E. Bulun// N Engl J Med. - 2009. - Vol.360. - P.268–279.
48. Bulun SE. Endometriosis /S.E. Bulun, Yilmaz B.D., Sison Ch. Et al. // Endocrine Reviews. - 2019. - Vol.40. - P.1048-1049.

49. Cameron, M.J. Cytokines and chemokines--their receptors and their genes: an overview / M.J. Cameron, D.J. Kelvin // Adv Exp Med Biol.- 2003.- Vol. 520.- P. 8. –32.
50. CD4+Foxp3+ regulatory T cell differentiation mediated by endometrial stromal cell-derived TECK promotes the growth and invasion of endometriotic lesions / M.-Q. Li, Y. Wang, K.-K. Chang, [et al.] // Cell Death Dis. - 2014. - Vol.5, №10. - P. 1436.
51. Chistiakov D.A. Is FCRL3 a new general autoimmunity gene? / D.A. Chistiakov, A.P. Chistiakov // Hum Immunol. - 2007.- Vol. 68, №5. – P. 375. –383.
52. Comparative study of HLA-DQA1 and HLA-DRB1 allele in patients with endometriosis and adenomyosis / L. Zong, D. Pan, W. Chen, [et al.] // Chinese J Med Genet. - 2002.- Vol. 19, №1. - P. 49. –51.
53. Complement pathway is frequently altered in endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer / S. Suryawanshi, X. Huang, E. Elishaev, [et al.] // Clinical Cancer Res. - 2014.- Vol. 20, №23. - P.61,63. –74.
54. Contributes to the pathogenesis of endometriosis by triggering proinflammatory cytokines and angiogenic growth factors / S.H. Ahn, A.K. Edwards, S.S. Singh, [et al.] // A.J. Immunology. - 2015. - №6. – P. 2591-2600.
55. Cytokine-induced production of ИФН-beta 2/il-6 by freshly explanted human endometrial stromal cells / S.S. Tabibzadeh, U. Santhanam, P.B. Sehgal, [et al.] // Modulation by estradiol-17 beta. J Immunology. -1989. - Vol. 142, №9. – P. 3134. –3139.
56. Decreased Bcl-6 and increased Blimp-1 in the peritoneal cavity of patients with endometriosis/ S.G. Yeol, Y.S. Won, Y.I. Kim, [et al.] // Clinical Exp Obstetrics Gynecology. - 2015. - Vol. 42, №2. - P. 156. –160.
57. Dendritic cell populations in the eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis / L. Schulke, M. Berbic, F. Manconi, [et al.] // Human Reproduction. - 2009. - Vol. 24, №7. – P.1695. –1703.
58. Dendritic cells attenuate the early establishment of endometriosis-like lesions in a murine model / A.K. Stanic, M. Kim, A.K. Styer, [et al.] // Reproduction Sci. - 2014. - Vol. 21, N10. – P.1228. –1236.
59. Different concentrations of interleukins in the peritoneal fluid of women with endometriosis: relationships with lymphocyte subsets / A. Gallinelli, G. Chiossi, L. Giannella, [et al.] // Gynecology Endocrinology Off J Int Soc Gynecology Endocrinology. - 2004. - Vol. 18, №3. - P. 144. –151.
60. Dmowski, W.P. Immunology of endometriosis / W. Paul Dmowski, D.P. Braun// Best Pract Res Clinical Obstetrics Gynecology. - 2004. - Vol. 18, №2. - P.245. – 263.
61. Endometrial alterations in endometriosis: a systematic review of putative biomarkers / K.E. May, J. Villar, S. Kirtley, [et al.] // Human Reproduction Update. - 2011. - Vol.17, №5. - P. 637. –653.

62. Endometrial BCL6 Overexpression in Eutopic Endometrium of Women with Endometriosis / E. Evans-Hoeker, B.A. Lessey, J.W. Jeong, [et al.] // Reproduction Sci. - 2016. - Vol. 23, №9. – P.1234. –1241.
63. Endometriosis and autoimmune disease: association of susceptibility to moderate severe endometriosis with CCL21 and HLA-DRB1 / J. Sundqvist, H. Falconer., M. Seddighzadeh, [et al.] // Fertility Sterility. - 2011.- Vol. 95, №1. - P. 437. –440.
64. Endometriosis and autoimmunity: Can autoantibodies be used as a non-invasive early diagnostic tool? / H. Greenbaum., B.-E.L. Galper, D.H. Decter, [et al.] // Autoimmunity Reviews. – 2021. – Vol. 20, Issue 5 – https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102795.
65. Endometriosis and subfertility: Is the relationship resolved? / M. D'Hooghe, S. Debrock, J.A. Hill [et al.]// Seminar Reproduction Medicine. - 2003. -Vol.21. - P.243.
66. Endometriosis markers: immunologic alterations as diagnostic indicators for endometriosis/ H.C. Bohler, C. Gercel-Taylor, B.A. Lessey, [et al.]// // Reproduction Sci. -2007. - Vol. 14, № 6. - P. 595. –604.
67. Endometriosis/ S.E. Bulun, B.D.Yilmaz, C. Sison et al. // Endocrine Reviews. – 2019. - Vol.40, №4. – P. 1048-1079.
68. Endometriosis: a new cellular and molecular genetic approach for understanding the pathogenesis and evolutivity/ J. Bouquet De Joliniere, J.M. Ayoubi, L. Gianaroli, [et al.] // Front. Surg. - 2014. – P. 1- 16.
69. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors / P. Vigano, F. Parazzini, E. Somigliana, [et al.]// Best Pract Res Clinical Obstetrics Gynecology. - 2004. –Vol.18. – P.177. –200.
70. Endometriosis: pathogenesis and treatment / P. Vercellini, P. Viganò, E. Somigliana, [et al.] //Nat Rev Endocrinology. -2013. – P.10 -15.
71. Epidemiology of endometriosis and its comorbidities / F. Parazzini, G. Esposito, L. Tozzi, [et al.] // Eur J Obstetrics Gynecology Reproduction Biology. -2017. – Vol. 209. – P. 3 - 7.
72. Evans, S. Pain and endometriosis /Evans S., G. Moalem-Taylor, D.J. Tracey // Pain. - 2007. - Vol. 132, №1. - P.22. –25.
73. Exacerbation of Endometriosis Due to Regulatory T-Cell Dysfunction / Y. Tanaka, T. Mori, F. Ito, [et al.] // J Clinical Endocrinology Metabolism. - 2017. - Vol. 102, №9. - P. 3206. –3217.
74. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 mRNA and protein is enhanced in endometriosis versus endometrial stromal cells in culture / P. Viganò, B. Gaffuri, E. Somigliana, [et al.] // Molecular Human Reproduction. - 1998. - Vol. 4, №12. - . 1150 – 1156.
75. Genome-wide genetic analyses highlight mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling in the pathogenesis of endometriosis / O. Uimari, N.

Rahmioglu, D. R. Nyholt, [et al.] //Human Reproduction. - 2017. - Vol. 32, №4. – P. 780. –793.

76. Healy, D.L. Giudice L. Endometriosis: Science and Practice / L. Giudice, J.L.H. Evers, D.L. Healy // Chichester, West Sussex: Wiley- Blackwell. - 2012. P.600.
77. Ho, H.N. Peritoneal cellular immunity and endometriosis / H.N. Ho, M.Y. Wu, Y.S. Yang // Am J Reproduction Immunology. - 1997.- Vol. 38, №6. – P. 400. – 412.
78. Host-derived ТΦРВ1 deficiency suppresses lesion development in a mouse model of endometriosis / M.L. Hull, M.Z. Johan., W.L. Hodge, [et al.] //Am J Pathology. - 2012.- Vol. 180, №3. – P. 880. –887.
79. Hughes, E.G. A quantitative overview of controlled trials in endometriosis associated infertility /E. G. Hughes, D.M. Fedorkow, J.A. Collins // Fertility Sterility. - 1993.- Vol. 59. - P. 963. –970.
80. Human endometriosis is associated with plasma cells and overexpression of B lymphocyte stimulator /A. Hever, R.B. Roth, P. Hevezi, [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A.- 2007.- Vol. 104, №30. – P. 12451. –12456.
81. il-17A Contributes to the Pathogenesis of Endometriosis by Triggering Proinflammatory Cytokines and Angiogenic Growth Factors / S.H. Ahn, A.K. Edwards, S.S. Singh, [et al.] // J Immunology. - 2015.- Vol. 195, №6. – P. 2591. –2600.
82. il-1β increases expression of tryptophan 2,3-dioxygenase and stimulates tryptophan catabolism in endometrioma stromal cells. / Y. Urata, K. Koga, Y. Hirota, [et al.] //Am. J. Reproduction Immunology. - 2014. – Vol. 72, №5. - P. 496-503.
83. Immune-inflammation gene signatures in endometriosis patients / S.H. Ahn, K. Khalaj, S.L. Young, [et al.] // Fertility Sterility. - 2016.-Vol.106, №6. - P.1420.-1431.
84. Immunobiology of endometriosis / D.I. Lebovic, M.D. Mueller, R.N. Taylor // Fertility Sterility. - 2001. - Vol. 75, №1. - P. 1–10.
85. Immunology of endometriosis / G.C. Riccio L. da, P. Santulli, L. Marcellin, [et al.] // Best Pract Res Clinical Obstetrics Gynecology. -2018. -Vol. 50. - P. 39. – 49.
86. Immunosuppressive activity of peritoneal fluid in women with endometriosis / D.J. Oosterlynck, C. Meuleman, M. Waer, [et al.] // Obstetrics Gynecology. - 1993.-Vol.82, №2.- P.206. –212.
87. Increase in the expression of killer cell inhibitory receptors on peritoneal natural killer cells in women with endometriosis / M.Y. Wu, J.H. Yang, K.H. Chao, [et al.] // Fertility Sterility. - 2000.- Vol. 74, №6. – P.1187. –1191.
88. Increased levels of human neutrophil peptides 1, 2, and 3 in peritoneal fluid of patients with endometriosis: association with neutrophils, T cells and il-8 / Ł.

Milewski, P. Dziunycz, E. Barcz, [et al.] // J Reproduction Immunology. - 2011. - Vol. 91, №1–2. - P. 64–70.

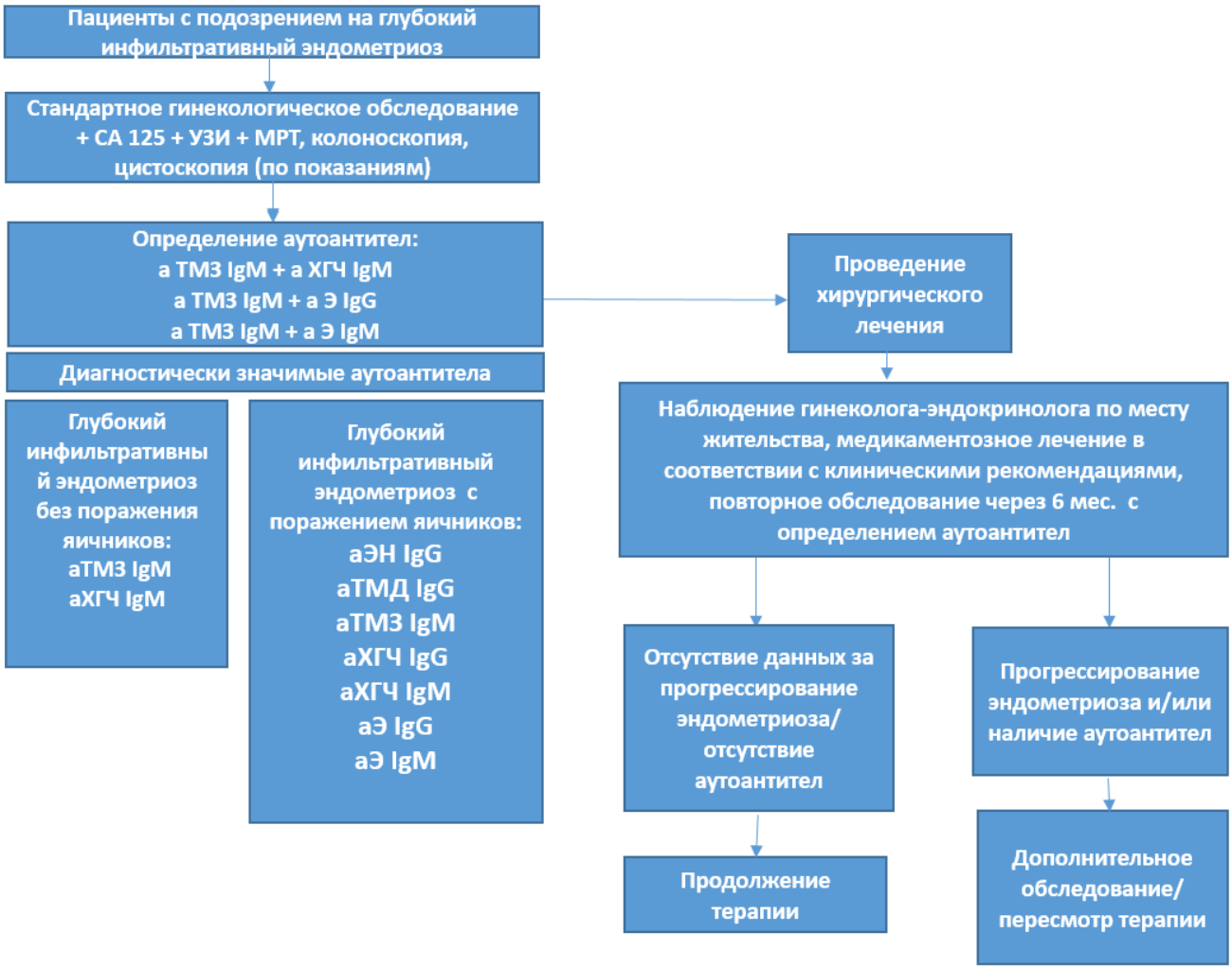
89. Increased percentage of Th17 cells in peritoneal fluid is associated with severity of endometriosis / M. Gogacz, I. WiEKler, A. Bojarska-Junak, [et al.] // J Reproduction Immunology. - 2016. - Vol. 117. - P.39. – 44.
90. Inhibition of human endometrial stromal cell proliferation by interleukin 6 / P.N. Zarmakoupis, S.E. Rier, G.B. Maroulis, [et al.] // Hum Reproduction. - 1995.- Vol. 10, №9. – P. 2395. –2399.
91. Interleukin-17A increases the secretion of interleukin-8 and the expression of cyclooxygenase 2 in endometriosis. / T. Hirata, Y. Osuga, M. Takamura, [et al.] //Fertility Sterility. – 2011. – Vol. 96, №1. – P. 113-117.
92. Interleukin-19 and interleukin-22 serum levels are decreased in patients with ovarian endometrioma / P. Santulli, B. Borghese, S. Chouzenoux, [et al.] // Fertility Sterility. - 2013. - Vol. 99, №1. - P. 219. -226.
93. Interleukin-33 modulates inflammation in endometriosis / J.E. Miller, S.P. Monsanto, S.H. Ahn, [et al.] // Sci Rep. - 2017. - Vol. 7, №1. – P.17903.
94. Involvement of the nuclear factor-κB pathway in the pathogenesis of endometriosis / R. González-Ramos, A. Van Langendonckt, S. Defrère, [et al.] // Fertility Sterility. - 2010. - Vol. 94, №6. - P. 1985. – 1994.
95. Králíčková, M. Immunological aspects of endometriosis: a review / M. Králíčková, V. Vetvicka // Ann. Transl. Med. - 2015.- Vol. 3, №11. – P. 153.
96. Lymphocytes in endometriosis / Y. Osuga, K. Koga, Y. Hirota, [et al.] // Am J Reproduction Immunology. - 2011. - Vol. 65, №1. - P. 1. –10.
97. Macrophages are alternatively activated in patients with endometriosis and required for growth and vascularization of lesions in a mouse model of disease / M. Bacci, A. Capobianco, A. Monno, [et al.] // Am. J. Pathology. - 2009.- Vol. 175, №2. - P. 547–556.
98. Mammalian MSC from selected species: Features and applications. / C. Uder, S. Bruckner, S. WiEKler, [et al.] // Cytometry A. - 2018. – Vol. 93, №1. - P. 32-49.
99. Mannose receptor is highly expressed by peritoneal dendritic cells in endometriosis. / G. Izumi, K. Koga, M. Takamura, [et al.] // Fertility Sterility. - 2017.- Vol.107, №1. - P. 167. -173.
100. Matrix metalloproteinase-27 is expressed in CD163+/CD206+ M2 macrophages in the cycling human endometrium and in superficial endometriotic lesions / A. Cominelli, H.P. Gaide Chevronnay, P. Lemoine, [et al.] // Mol Human Reproduction. - 2014.- Vol. 20, №8. - P. 767. –775.
101. McLaren, J. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis/ J. McLaren // Hum Reproduction Update. - 2000. - Vol. 6, №1. -P. 45 –55.

102. Natural Killer T cell subsets in eutopic and ectopic endometrium: a fresh look to a busy corner / A. S. Laganà, O. Triolo, F.M. Salmeri, [et al.] // Arch Gynecology Obstetrics. - 2016. - Vol. 293, №5. - P. 941. –949.
103. Neutrophil depletion reduces endometriotic lesion formation in mice / M. Takamura, K. Koga, G. Izumi, [et al.] // Am. J. Reproduction Immunology. - 2016. - Vol.76, №3.- P.193 –198.
104. Neutrophils and macrophages promote angiogenesis in the early stage of endometriosis in a mouse model / Y.-J. Lin, M.-D Lai., H.-Y Lei., [et al.] // Endocrinology. - 2006. - Vol.147, №3. – P. 1278 –1286.
105. No association between HLA-DRB1 alleles and susceptibility to advanced stage endometriosis in a Korean population / D.H. Whang, S.H. Kim, Y.M. Choi, [et al.] // Hum Reproduction. - 2006. - Vol. 21, №1. - P.129. –133.
106. Ovarian endometrioma but not deep infiltrating endometriosis is associated with increased serum levels of interleukin-8 and interleukin-6 /F. Carmona, C. Chapron, M.-Á. Martínez-Zamora, [et al.] // J Reproduction Immunology. - 2012. - Vol. 95, №1–2. - P. 80. –86.
107. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis / J.L. Shifren, J.F. Tseng, C.J. Zaloudek, [et al.] // J Clinical Endocrinology Metabolism. - 1996. - Vol. 81, №8. - P. 3112. – 3118.
108. Panel of Autoimmune Markers for Noninvasive Diagnosis of Minimal–Mild Endometriosis: A Multicenter Study / R. Gajbhiye, T. Bendigeri, A. Ghuge [et al.] // Reproduction Sciences. – 2016. – Vol. 24, №3 – P. 413 -420.
109. Pathogenesis of endometriosis: natural immunity dysfunction or autoimmune disease? / G. Matarese, G. De Placido, Y. Nikas, C. Alviggi // Trends Mol Med. - 2003.- Vol. 9, №5. - P. 223. – 228.
110. Pathophysiology and Immune Dysfunction in Endometriosis / S.H. Ahn, S.P. Monsanto, C. Miller, [et al.] // Biomed Res Int. - 2015. - P. 1 –12.
111. Peritoneal cytokines and adhesion formation in endometriosis: an inverse association with vascular endothelial growth factor concentration / E. Barcz, Ł. Milewski, P. Dziunycz, [et al.] // Fertility Sterility. – 2012. – Vol. 97, №6. – P. 1380 -1386.
112. Peritoneal macrophage depletion by liposomal bisphosphonate attenuates endometriosis in the rat model / E. Haber, H.D. Danenberg, N. Koroukhov, [et al.] // Hum Reproduction. - 2009. - Vol. 24, №2. - P. 398. – 407.
113. Platelet-derived ТФР-β1 mediates the down-modulation of ЕКG2D expression and may be responsible for impaired natural killer (ЕК) cytotoxicity in women with endometriosis. / S.-W. Guo, Y. Du, X. Liu // Hum Reproduction. - 2016. - Vol. 31, №7. - P. 1462. –1474.

114. Possible involvement of signal transducer and activator of transcription-3 in cell-cell interactions of peritoneal macrophages and endometrial stromal cells in human endometriosis / F. Itoh, Y. Komohara, K. Takaishi, [et al.] // Fertility Sterility. - 2013.- Vol.99, №6. – P.1705. –1713.
115. Postoperative endometriosis recurrence: a plea for prevention based on pathogenetic, epidemiological, and clinical evidence / P. Vercellini, E. Somigliana, P. Viganò, [et al.] // Reproduction Bio Med Online. - 2010. – Vol.21, №2. – P. 259. –265.
116. Practice Committee of the ASRM. Endometriosis & infertility // Fertility Sterility. - 2006. – Vol. 86, №4. - S156. – 160.
117. Pro-inflammatory cytokines for evaluation of inflammatory status in endometriosis. / A.M. Malutan, T. Drugan, N. Costin, [et al.] //Cent. Eur. J. Immunol. – 2015. – Vol. 40, №1. – P. 96-102.
118. Prostaglandin E2: the master of endometriosis? / M.-H. Wu, C.-W. Lu, P.-C. Chuang, [et al.] // Exp Biol Med (Maywood). - 2010.- Vol. 235, №6. – P. 668 –677.
119. Rediscovering peritoneal macrophages in a murine endometriosis model / M. Yuan, D. Li, M. An, [et al.] // Hum Reproduction. - 2017.- Vol. 32, №1. - P.94. –102.
120. Regulation of apoptotic pathways during endometriosis: from the molecular basis to the future perspectives / V. Vetvicka, A.S. Laganà, F.M. Salmeri, [et al.] // Arch Gynecology Obstetrics. - 2016. -Vol. 294, №5. - P. 897. –904.
121. Rižner, T.L. Diagnostic potential of peritoneal fluid biomarkers of endometriosis / T.L. Rižner// Expert Rev Mol Diagn. - 2015. - Vol.15, №4. - P. 557 –80.
122. Role of cytokines in endometriosis / T. Harada, T. Iwabe, N. Terakawa // Fertility Sterility. -2001.- Vol. 76, №1. - P.1. –10.
123. Role of il-18 in pathogenesis of endometriosis / H. Oku, Y. Tsuji, S.-I. Kashiwamura, [et al.] // Hum Reproduction. - 2004. - Vol. 19, №3. - P.709. – 714.
124. Salih, H.R. Cutting edge: down-regulation of MICA on human tumors by proteolytic shedding / H.R. Salih, H.-G. Rammensee, A. Steinle // J Immunology. - 2002. - Vol. 169, №8. – P. 4098. –4102.
125. Salih, H.R. Release of MICB molecules by tumor cells: mechanism and soluble MICB in sera of cancer patients / H.R. Salih, D. Goehlsdorf, A. Steinle // Hum Immunology. - 2006. - Vol. 6,7 №3. - P.188. –195.
126. Sampson, J.A. Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation / J.A. Sampson // Am J Pathol. - 1927. - Vol. 3, № 2. - P. – 93 -110
127. Schenken, R.S. Surgical induction of endometriosis in the rabbit: Effects on fertility and concentrations of peritoneal fluid prostaglandins / R.S. Schecтaren, R.H. Asch // Fertility Sterility. -1980. – Vol. 34. - P.581.

128. Senturk, L.M. Immunology of endometriosis / L.M. Senturk, A. Arici // J Reproduction Immunology. - 1999. - Vol. 43, №1.- P. 67. –83.
129. Serum level of il-10 is increased in patients with endometriosis, and il-10 promotes the growth of lesions in a murine model / J.-L. Suen, Chang Y., Chiu P.-R., [et al.] // Am J Pathology. - 2014. - Vol. 184, №2. – P. 464. –471.
130. Shen, P. Antibody-independent functions of B cells: a focus on cytokines / P. Shen, S. Fillatreau // Nat Rev Immunology. -2015. - Vol. 15, №7. - P.441. –451.
131. Signs of reduced angiogenic activity after surgical removal of deeply infiltrating endometriosis / V. Bourlev, Iljasova N., Adamyan L., [et al.] // Fertility Sterility. - 2010. - Vol. 94, №1. – P. 52. –57.
132. Simultaneous Detection and Evaluation of Four Subsets of CD4+ T Lymphocyte in Lesions and Peripheral Blood in Endometriosis / M. Takamura, K. Koga, G. Izumi, [et al.] // Am J Reproduction Immunology. - 2015. - Vol. 74, №6. – P. 480 – 486.
133. Soluble ligands for the EKG2D receptor are released during endometriosis and correlate with disease severity / I. González-Foruria, P. Santulli, S. Chouzenoux, [et al.] // PLoS One. - 2015. - Vol. 10, №3. DOI:10.1371/journal.pone.0119961
134. Sphingosine-1 phosphate promotes intestinal epithelial cell proliferation via S1PR2. / P.Cappello, M. Principe, S. Bulfamante et al. Frontiers Bioscience – 2017- Vol. 22 – P. 944 - 959.
135. Straub, R.H. The complex role of estrogens in inflammation/ R.H. Straub // Endocr Rev. - 2007. - Vol.28, №5. - P. 521. –574.
136. Studies on the human leukocyte antigen class I antigens in Japanese patients with macroscopically diagnosed endometriosis. / K. Ishii, Takakuwa K., Adachi H., [et al.] // Gynecology Obstetrics Invest. - 2002. - Vol. 54, №3. – P.150. –153.
137. Studies on the human leukocyte antigen-DR in patients with endometriosis: genotyping of HLA-DRB1 alleles / K. Ishii, K. Takakuwa, T. Mitsui, [et al.] // Hum Reproduction. - 2002. - Vol. 17, №3. - P. 560. –563.
138. Study on polymorphism of human leukocyte antigen-DRB1 allele in patients with endometriosis / X. Wang, C. Liu, Q. Lin, [et al.] // Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. - 2002. - Vol. 37, №6. - P. 346. –348.
139. Subpopulations of macrophages within eutopic endometrium of endometriosis patients / A. Takebayashi, F. Kimura, Y. Kishi, [et al.] //Am J Reproduction Immunology. - 2015. - Vol. 73, №3. – P. 221. –231.
140. Suppression of matrix metalloproteinase-9 by prostaglandin E (2) in peritoneal macrophage is associated with severity of endometriosis / M.-H. Wu, Y. Shoji, M.-C. Wu, [et al.] // Am J Pathol. - 2005. - Vol. 167, №4. - P. 1061. –1069.
141. Suppressive regulatory T cells and latent transforming growth factor-β-expressing macrophages are altered in the peritoneal fluid of patients with endometriosis / T. Hanada, S. Tsuji, M. Nakayama, [et al.] // Reproduction Biology Endocrinology. - 2018. - Vol. 16, №1. – P. 9.

142. Susceptibility to ovarian endometriosis in Polish population is not associated with HLA-DRB1 alleles / P.I. Roszkowski, M. SaEKowska, A. Jalbrzykowska, [et al.] // Hum Reproduction. - 2005. - Vol. 20, №4. - P. 970. –973.
143. T regulatory lymphocytes in patients with endometriosis / M. Gogacz, I. WiEKler, A. Bojarska-Junak, [et al.] // Mol Med Rep. - 2014. - Vol. 10, №2. - P.1072. –1076.
144. The crosstalk between endometrial stromal cells and macrophages impairs cytotoxicity of EK cells in endometriosis by secreting il-10 and TΦP-β / H.-L. Yang, W.-J. Zhou, K.-K. Chang, [et al.] // Reproduction 2017. - Vol. 154, №6. – P. 815. –825.
145. The development of endometriosis in a murine model is dependent on the presence of dendritic cells /N. Pencovich, J. Luk, S. Hantisteanu, [et al.] // Reproduction Biomed Online. - 2014. - Vol. 28, №4. - P. 515. –521.
146. The Immunopathophysiology of Endometriosis / L.K. Symons, J.E. Miller, V.R. Kay, [et al.] // Trends Mol Med. - 2018. - Vol. 24, №9. - P. 748. – 762.
147. The liEK between immunity, autoimmunity and endometriosis: a literature update / T. Zhang, C. De Carolis, C.W. Man G., C.C. Wang // Autoimmun Rev. - 2018. - Vol. 17, №10. – P. 945. –955.
148. The Pathogenesis of Endometriosis: Molecular and Cell Biology Insights / A.S. Laganà, S. Garzon, M. Götte, [et al.] // Int J Mol Sci. - 2019. - Vol. -20, № 22. – P. 5615.
149. The peritoneum is both a source and target of TΦP-β in women with endometriosis / V.J. Young, J.K. Brown, T.K. Saunders P., [et al.] // PLoS One. - 2014.- Vol. 9, N 9. P. e106773.
150. The possible role of genetic variants in autoimmune-related genes in the development of endometriosis / B. Bianco, G.M. André, F.L. Vilarino, [et al.] // Hum Immunology. - 2012.- Vol. 73, №3. – P. 306. –315.
151. The relationship between microvessel density, proliferative activity and expression of vascular endothelial growth factor -a and its receptors in eutopic endometrium and endometriotic lesions / V. Bourlev, N. Volkov, S. Pavlovitch, [et al.] // Reproduction. -2006. - Vol. 132, №3. - P. 501. –509.
152. The role of complement components C1q, MBL and C1 inhibitor in pathogenesis of endometriosis / J. Sikora, A.Wróblewska- Czech, M. Smycz-Kubańska, [et al.] // Arch Gynecology Obstetrics. - 2018. - Vol. 297, №6. - P. 1495. –501.
153. The role of the B lymphocytes in endometriosis: A systematic review / L.G.C. Riccio, E.C. Baracat, C. Chapron, [et al.] // J Reproduction Immunology. - 2017. - Vol. 123. - P. 29. –34.
154. Thomas, E.J. Endometriosis. BMJ 1993. -306. -158–159.
155. Transforming growth factor β1 enhances adhesion of endometrial cells to mesothelium by regulating integrin expression / H.-J. Choi, Park M.-J., B.-S. Kim, [et al.] // BMB Rep. - 2017. - Vol. 50, №8. – P. 429. –434.

156. Use of Ly6G-specific monoclonal antibody to deplete neutrophils in mice / J.M. Daley, A.A. Thomay, M.D.Connolly, [et al.] // J. Leukoc. Biol. - 2008. - Vol.
157. Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium / D.J. Oosterlynck, F.J. Cornillie, M. Waer, [et al.] // Fertility Sterility. - 1991. - Vol. 56, №1. - P. 45. – 51.
158. Zondervan, K. T., Becker C.M., Christian M. Endometriosis // The New England Journal of Medicine. -2020. – Vol. 382. – P. 1244-1256.
159. ТФР-β1 induces proteinase-activated receptor 2 (PAR2) expression in endometriotic stromal cells and stimulates PAR2 activation-induced secretion of il-6 / A. Saito, Y. Osuga, O. Yoshino, [et al.] // Hum Reproduction. - 2011. -Vol. 26, №7. – P. 1892. –1898.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Алгоритм обследования пациентов с наружным генитальным эндометриозом с включением аутоантител к стероидным гормонам, ХГЧ, специфическим эндометриальным антигенам и гликолитическому ферменту α-енолазе.