

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»  
Министерства образования и науки Российской Федерации

*На правах рукописи*

Новгинов Дмитрий Сергеевич

НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА  
НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Ордянец Ирина Михайловна

Москва — 2023

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	3
ГЛАВА 1. НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА НА ОСНОВЕ БИОМАРКЕРОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....	11
ГЛАВА 2. ПРОГРАММА, КОНТИНГЕНТ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	21
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОК.....	28
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	39
ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	49
ГЛАВА 6. АЛГОРИТМ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА.....	59
ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	70
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	92
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	96
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	97

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Распространенность эндометриоза среди женщин репродуктивного возраста достигает 10%, и он поражает примерно 190 млн женщин данной возрастной когорты [29, 169]. Заболевание диагностируют у 30–50% женщин с хронической тазовой болью и необъяснимым бесплодием. Оно становится одной из основных причин нетрудоспособности и снижения качества жизни взрослых женщин и подростков [87]. Заслуживают внимания сведения о росте распространенности наружного генитального эндометриоза (НГЭ) среди россиянок, что ставит во главе угла риск ятрогенной хирургической травмы и снижения репродуктивного потенциала женщин, не реализовавших репродуктивные планы [16].

Эндометриоз — огромное финансовое бремя для пациентки и системы здравоохранения: очевидны как прямые затраты на его диагностику, лечение, преодоление ассоциированной с ним инфертильности, так и не прямые — длительность нетрудоспособности достигала до 10 часов в неделю [157]. Расходы сопоставимы с таковыми на другие распространёнными заболеваниями, как сахарный диабет 2 типа, ревматоидный артрит и болезнь Крона [169].

Несмотря на догиппократовскую историю познания эндометриоза (первые упоминания его симптомов обнаружены в древнеегипетских рукописях 1855 г. до н.э.), он до сих пор остаётся «болезнью загадок и предположений» [166]. Нет достоверных сведений о патогенезе, прогнозировании его и уж вовсе непредставим тот факт, что «золотым стандартом» диагностики эндометриоза долгое время признавали непосредственную визуализацию очагов поражения во время операции вместе с гистологическим подтверждением наличия эндометриальных желез и стромы в биоптатах. Данный факт имеет значимые последствия. Хирургической диагностике присуще множество недостатков — как риски самого оперативного метода (кровотечение, инфицирование, образование спаек), так и не всегда обоснованные «расширения» вмешательства — биопсии, энуклеации миоматозных узелков без императивных показаний. Не исключены и известные риски анестезиологического пособия. Инвазивность диагностического метода,

недостаточная распространенность эндовидеохирургических технологий вплоть до конца 20 века при частой бессимптомности течения эндометриоза приводили к задержке постановки диагноза до 8–12 лет [157]. 20-е годы отличает противоположная картина: стремление к увеличению «мануальных» вмешательств приводит к учащению диагностических лапароскопических процедур, и соответственно — увеличению перечисленных осложнений.

Безусловно, лапароскопия — высокоинформативный и надёжный метод диагностики эндометриоза, особенно перитонеального, но присущие ей недостатки (стоимость, инвазивность, возможные осложнения) и отсутствие убедительных доказательств её преимуществ перед эмпирической гормональной терапией отныне не позволяют рассматривать данный метод в качестве «золотого стандарта», делая её резервным методом при отрицательных результатах магнитно-резонансной томографии (МРТ) и ультразвукового исследования (УЗИ) или неуспешности эмпирической терапии [71].

Перечисленное выше актуализирует необходимость разработки простого, эффективного и главное — неинвазивного способа диагностики эндометриоза.

21 век сменил традиционные парадигмы медицины на приоритет 4П: prediction — предупреждение, prevention — предотвращение, personalization — персонализированный подход и participation — участие в диагностике и лечении при обоюдном понимании сути патологических процессов. Приказом Министерства здравоохранения РФ от 24 апреля 2018 г. N 186 утверждена концепция предиктивной, превентивной и персонализированной медицины, главный приоритет которой — развитие индивидуальных подходов к пациенту, основанных в том числе «на анализе генетических особенностей и иных биомаркеров с целью выявления предрасположенностей к развитию заболеваний», применение биомаркеров для «персонализированных методов лечения и мониторинга его эффективности», создание технологий «определения индивидуального риска развития неинфекционных заболеваний на основе идентификации молекулярно-генетических маркеров и иных биомаркеров» и профилактика таких заболеваний [12]. Не вызывает сомнений, что создание неинвазивного теста для диагностики

эндометриоза — заболевания, крайне негативно влияющего на физическое, психическое и репродуктивное здоровье женщины, резко ухудшающего ее качество жизни и наносящего экономический ущерб пациентке и системе здравоохранения, — в полной мере направлено на решение поставленных концепцией задач.

Неинвазивные тесты могут основываться на анализе сыворотки или плазмы крови, мочи, менструальной жидкости, взятой из заднего свода влагалища или цервикального канала во время осмотра при помощи зеркал. Главная цель таких тестов — не пропустить ни одну пациентку с тестируемым заболеванием, в том числе с эндометриозом. Именно при такой болезни как эндометриоз подобное тестирование помогло бы обосновать диагноз и выбрать хирургическое лечение эндометриоз-ассоциированного бесплодия, наиболее часто, но не всегда правильно становящегося показанием к операции. Не менее важен этот тест для дифференциальной диагностики хронической тазовой боли — связанной или не связанной с эндометриозом. Высокочувствительный тест для выполнения указанных задач необходим, но в настоящее время его нет.

Ожидают, что клинически испытанный тест на эндометриоз снизит расходы системы здравоохранения и самого пациента путем сокращения времени диагностики; затрат на эмпирическое лечение, преодоление бесплодия. Неинвазивные тесты позволят улучшить качество жизни женщин с эндометриозом благодаря его ранней диагностике [37].

**Степень разработанности темы.** Результат поиска в базе PubMed по запросу «endometriosis biomarker» выдает более 2000 результатов. За последние десятилетия в качестве потенциальных биомаркеров эндометриоза в крови, моче, менструальной крови и эндометрии изучены сотни молекул разных классов — цитокины, гликопротеины, факторы роста, ангиогенеза, апоптоза и другие. Успех пока не достигнут, но большие надежды возлагают на относительно «молодые» -омики: протеомику, геномику и технологию ДНК-микрочипов (DNA-microarray). МикроРНК стали одними из наиболее изучаемых в качестве потенциальных маркеров многих заболеваний, в том числе эндометриоза [37].

Множество исследований показало изменение экспрессии микроРНК в эутопическом, одновременно в эутопическом и эктопическом эндометрии при эндометриозе и различия в концентрации циркулирующих микроРНК у здоровых и больных эндометриозом женщин. Однако результаты зачастую противоположны и не согласуются между собой. Опубликованные данные разобщены, не систематизированы, анализ самих исследований не подтверждает их высокого качества, что подчеркивает актуальность данной работы.

**Цель** исследования: улучшить неинвазивную диагностику наружного генитального эндометриоза.

В соответствии с целью определены **задачи** исследования:

1. Установить распространённость наружного генитального эндометриоза среди пациенток, госпитализированных в гинекологический стационар.

2. Выявить особенности клинико-социальной характеристики пациенток гинекологического стационара с наружным генитальным эндометриозом.

3. Определить клинико-anamнестические факторы риска верификации наружного генитального эндометриоза.

4. Исследовать уровни miR-183, miR-125b, miR-126, miR-16, miR-15a, miR-200a, miR-20a, miR-21, miR-222 и miR-29b и оценить их диагностическую значимость для верификации наружного генитального эндометриоза и его осложнений (спаечный процесс, бесплодие).

5. Определить предикторы и построить модели прогноза риска наружного генитального эндометриоза и его осложнений (спаечный процесс, бесплодие).

6. Разработать алгоритм обследования пациенток репродуктивного возраста с подозрением на наружный генитальный эндометриоз и спаечный процесс в малом тазу и оценить его эффективность.

**Научная новизна исследования.** Получены новые данные об участии ряда микроРНК в патогенезе НГЭ. Доказана прогностическая значимость для верификации НГЭ уровня miR-183, уровней miR-20a, miR-222 и miR-29b у фертильных пациенток. Впервые описаны снижение уровня miR-29b в крови у пациенток с НГЭ и повышение уровня miR-200a у пациенток со спаечным

процессом, независимо от наличия/отсутствия НГЭ. Показано предиктивное значение уровня miR-200a для верификации спаечного процесса, в том числе при НГЭ.

Определены клиничко-анамнестические предикторы риска наличия у пациентки НГЭ — болезни системы пищеварения в целом (повышение риска в 9,34 раза) и хронический гастрит (повышение риска в 2,7 раза). Впервые установлена значимая взаимосвязь снижения сывороточной концентрации общего билирубина в крови и укорочения АЧТВ у пациенток с НГЭ. Доказано прогностическое значение их уровней для выделения контингентов вероятностного риска наличия у пациенток НГЭ.

Концептуально обоснован алгоритм обследования пациенток репродуктивного возраста с использованием методик неинвазивной диагностики, предусматривающий выделение среди женщин репродуктивного возраста групп риска НГЭ, требующего хирургического лечения, а также наличия спаечного процесса.

**Теоретическая и практическая значимость.** В результате исследования расширены представления о патогенезе НГЭ, участии в нем конкретных микроРНК: miR-183, регулирующей клеточную пролиферацию, инвазию и эпителиально-мезенхимальный переход и miR-29b, участвующей в подавлении ангиогенеза, усилении апоптоза и клеточной дифференцировки.

Выявлено повышение в сыворотке крови пациенток со спаечным процессом уровня miR-200a, участвующей в развитии фиброза, что позволяет считать дисрегуляцию miR-200a одним из звеньев патогенеза спаечного процесса в малом тазу, в том числе при НГЭ. Показана возможность неинвазивной диагностики спаечного процесса в малом тазу на основе анализа уровня miR-200a.

Уточнены клиничко-анамнестические факторы риска наличия НГЭ, доказано предиктивное значение наличия в анамнезе болезней системы пищеварения и хронического гастрита в отношении возможной верификации заболевания. Доказана возможность использования рутинных лабораторных тестов (уровни

общего билирубина и АЧТВ в сыворотке крови) для расчета вероятности верификации НГЭ у конкретной пациентки.

Предложен авторский алгоритм ведения пациенток с подозрением на НГЭ и спаечный процесс в малом тазу, позволяющий выделить контингенты риска, подлежащие углубленному обследованию на амбулаторном этапе, и предотвратить необоснованные хирургические вмешательства.

**Методология и методы исследования.** Диссертационная работа представляет собой проспективное исследование вида «случай–контроль», выполненное в период 2017–2022 гг. на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии (зав. кафедрой — засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, д.м.н., проф. В.Е. Радзинский) медицинского института РУДН — в отделении гинекологии ГБУЗ «ГКБ №29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ» (зав. отделением — к.м.н. Д.Г. Арютин) и в филиале №1 «Женская консультация» (зав. филиалом — к.м.н. Л.Д. Оразмурадова).

В соответствии с дизайном исследования, а также критериями включения и исключения, были обследованы 80 женщин репродуктивного возраста, направленных на плановую лапароскопию в гинекологическое отделение. По результатам лапароскопии и морфологического исследования пациенток стратифицировали на две группы: I (исследуемую) составили 54 женщины с лапароскопически и морфологически верифицированным НГЭ (МКБ-10 N80.1, N80.2, N80.3); II (контроль) — 26 женщин без такового.

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

1. Ранняя неинвазивная диагностика наружного генитального эндометриоза, прежде всего с поражением яичников, является неиспользованным резервом снижения риска ятрогенной хирургической травмы и репродуктивного потенциала молодых женщин.

2. Клинико-анамнестическим фактором риска наружного генитального эндометриоза выступают болезни системы пищеварения (ОШ=9,4; 95% ДИ 3,5–25,3), среди которых статистически значим хронический гастрит (ОШ=2,7; 95% ДИ 1,1–6,8).



3. В качестве предикторов риска наличия у пациенток репродуктивного возраста наружного генитального эндометриоза могут использоваться показатели АЧТВ, концентрации билирубина в сыворотке крови и уровень miR-183. Уровни miR-20a, miR-222 и miR-29b могут быть применимы для верификации наружного генитального эндометриоза у фертильных женщин.

4. Определение уровня miR-200a позволяет диагностировать тазовые перитонеальные спайки независимо от наличия/отсутствия наружного генитального эндометриоза.

5. Предложенный алгоритм обследования пациенток репродуктивного возраста с использованием разработанной математической модели позволяет на догоспитальном этапе выделить контингент высокого риска наличия наружного эндометриоза и тазовых перитонеальных спаек, обосновать необходимость углубленного обследования, а также целесообразность и (при наличии показаний) время выполнения хирургического вмешательства. Внедрение разработанного алгоритма в клиническую практику способствует снижению ( $p < 0,05$ ) необоснованных госпитализаций пациенток с диагнозом НГЭ.

**Степень достоверности и апробация результатов работы.** Статистическая обработка данных выполнена в программах Statistica TIBCO Software Inc. (версия 13.5.0.17) и IBM SPSS. Сравнение двух независимых групп по количественному признаку выполнено при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни, более двух — Краскела-Уоллиса. Сравнение групп по качественному бинарному признаку выполнено при помощи критерия  $\chi^2$  и точному критерию Фишера, если частота признака меньше или равна 5. Для оценки диагностической ценности предложенных маркеров использовали ROC-анализ и критерий Юдена (Youden) для выбора «точки отсечения» значения маркеров [165]. Для корреляционного анализа использовали критерий Спирмена и Кендалла [77]. Математическая модель диагностики НГЭ построена на основе уравнения, полученного в ходе логистического регрессионного анализа. Оценка статистической значимости математической модели выполнена методом максимального правдоподобия; оценка

значимости коэффициентов регрессоров — тестом Вальда. За уровень статистической значимости принято значение  $p < 0,05$  [9].

Диссертация выполнена в рамках приоритетного направления научно-исследовательской деятельности кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии МИ РУДН, «Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально-экономических условиях» (номер гос. регистрации 01.9.70 007346, шифр темы 317712).

Результаты работы доложены, обсуждены и одобрены на: IX Общероссийском конференц-марафоне «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (Санкт-Петербург, 2022), VI Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: уральские чтения» (Екатеринбург, 2022); XVI, XVII Общероссийских научно-практических семинарах «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2022; 2023).

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии МИ РУДН 30 июня 2023 г. протокол №19.

Результаты проведенного диссертационного исследования внедрены в учебный процесс студентов и клинических ординаторов кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского института РУДН и клиническую практику Филиала №1 «Женская консультация» ГБУЗ «ГКБ №29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ».

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 6 — в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и РУДН.

Диссертация изложена на 114 страницах, состоит из введения, 7 глав, заключения, списка сокращений и списка литературы; иллюстрирована 35 таблицами, 27 рисунками. Список литературы включает 170 источников, в том числе 151 иностранный.

## **ГЛАВА 1. НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА НА ОСНОВЕ БИОМАРКЕРОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Диагностика эндометриоза по-прежнему — трудноразрешимая задача. Преимущественно внутрибрюшное расположение очагов и их малые размеры не позволяют верифицировать заболевание иными визуализирующими методами, кроме лапароскопии, что и делало её долгие годы «золотым стандартом» диагностики [71]. Не удивительно, что 87% среди 743 опрошенных пациенток узнала о диагнозе именно после операции [87]. Напротив, ЭКЯ с более чем 90%-й чувствительностью и специфичностью могут быть диагностированы при трансвагинальном УЗИ и МРТ, а глубокий инфильтративный эндометриоз и спаечный процесс в малом тазу опытный акушер-гинеколог способен распознать при помощи УЗИ [27].

И хотя жалобы на тазовую боль начинают беспокоить еще с подросткового возраста, многие женщины не получают своевременного лечения — до установления верного диагноза им приходится сменить в среднем 7 врачей и потратить в среднем 9 лет [87, 163]. Примечательно, что чем моложе возраст дебюта симптомов, тем дольше была задержка в постановке диагноза: в среднем 13 лет при появлении симптомов до 13 лет [87].

Клиническая картина может быть схожа с другими заболеваниями, поэтому основанный на симптомах алгоритм диагностики недостаточно надёжен, а проводимые обследования не обладают достаточной чувствительностью. К тому же не все жалобы страдающая эндометриозом женщина полностью излагает врачу — стигматизация обсуждения менструального цикла, сексуального и репродуктивного здоровья выставляет дополнительные барьеры между пациенткой и специалистом, вынуждая её терпеть причиняемые эндометриозом страдания [147].

Добавляет сложности недостаточная осведомленность о заболевании населения и работников здравоохранения. Так, в Великобритании более половины населения ничего не знают об эндометриозе, включая 62% женщин 16–24 лет, а

следовательно, расценивают его симптомы как нормальную характеристику менструального цикла. И, к еще большему сожалению, указанное заблуждение нередко поддерживают и сами медицинские работники [147]. Результат указанных проблем — семилетняя задержка в установлении верного диагноза от момента появления первых симптомов, что в свою очередь усугубляет тазовую боль, нарушает психическое здоровье, снижает качество жизни и фертильность (рисунок 1.1) [169]. Перечисленное выше доказывает актуальность разработки эффективного, неинвазивного теста, основанного на биомаркерах.



Рисунок 1.1 — Причины неудач в диагностике эндометриоза [169]

Биомаркер — специфический признак, измеряемый как индикатор нормального или патологического процесса, а также ответа на воздействие, включая терапевтическое. Диагностический биомаркер может быть использован для выявления или подтверждения заболевания, его конкретной стадии, факта рецидива после лечения [162].

Для обнаружения биомаркера эндометриоза важно правильно подобрать контрольную группу. Большинство кандидатов хорошо проявляют себя как потенциальные маркеры на фоне контрольной группы, состоящей из здоровых женщин. Но как известно, эндометриоз — заболевание с гетерогенными проявлениями, и требует дифференциальной диагностики с другими воспалительными гинекологическими и урологическими болезнями. Таким

образом, подбор гетерогенной контрольной группы необходим для обнаружения высокоспецифичного биомаркера эндометриоза [34].

Для его поиска используют две основные стратегии: подход, основанный на гипотезе, и высокопроизводительный скрининг (от англ. high-throughput screening) молекул — «омикс-биомаркеров». Первая стратегия опирается на существующие представления о патогенезе эндометриоза у животных и человека, предсказывая потенциальные маркеры заболевания для их дальнейшего тестирования в эксперименте и клинической практике, сравнения их концентраций у больных и женщин контрольной группы. В противоположность этому «омикс»-скрининг использует высокопроизводительные технологии (РНК-секвенирование, протеомика, липидомика) для выявления среди когорт здоровых женщин и пациенток с эндометриозом биомаркеров-кандидатов [43].

За последние десятилетия в качестве потенциальных биомаркеров эндометриоза в крови, моче, менструальной крови и эндометрии изучены сотни молекул разных классов — цитокины, гликопротеины, факторы роста, ангиогенеза, апоптоза и другие. Успех пока не достигнут, и большие надежды возлагают на относительно «молодые» протеомику, геномику и технологию ДНК-микрочипов (DNA-microarray). Одними из наиболее изучаемых этими методами в качестве потенциальных маркеров многих заболеваний, в том числе эндометриоза, стали микроРНК [37].

МикроРНК — короткие (21–25 нуклеотидов) одноцепочечные РНК, относящиеся к классу малых, некодирующих РНК. Они выступают основными небелковыми регуляторами экспрессии генов, связываясь с комплементарными мРНК. Выделяясь из клеток внутри внеклеточных везикул, микроРНК действуют как межклеточные мессенджеры, перенося информацию от клетки к клетке. Синтез микроРНК строго контролируется и малейшие его нарушения могут стать причиной различных заболеваний, в том числе злокачественных. К настоящему времени идентифицировали более 2812 микроРНК, участвующих в различных физиологических и патологических процессах у человека. Их дисрегуляция обнаружена при множестве экстрагенитальных заболеваний (от сердечно-

сосудистых до опухолевых, метаболических и воспалительных) и болезней репродуктивной системы (злокачественные опухоли шейки, яичников, эндометрия; преэклампсия, привычное невынашивание, эндометриоз).

Благодаря своей стабильности в биологических средах и тканевой специфичности, микроРНК, впервые описанные в качестве биомаркеров опухолевых процессов в 2008 г., — подходящие кандидаты для неинвазивной диагностики многих заболеваний, в том числе эндометриоза (рисунок 1.2) [46].

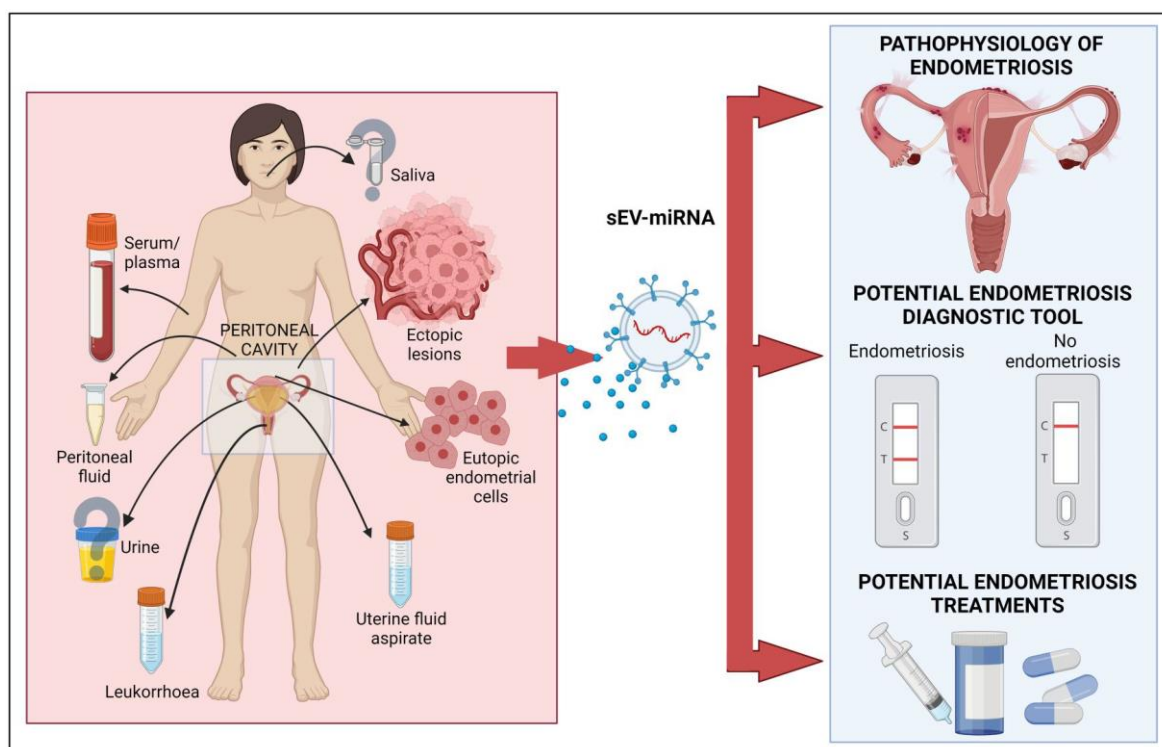


Рисунок 1.2 — Потенциальные диагностические возможности микроРНК из внеклеточных везикул [156]

Множество исследований показало изменение экспрессии микроРНК в эутопическом, одновременно в эутопическом и эктопическом эндометрии при эндометриозе и различия в концентрации циркулирующих микроРНК у здоровых и больных эндометриозом женщин. Однако результаты зачастую противоположны и не согласуются между собой.

Недавний систематический обзор обобщили результаты 46 исследований микроРНК как биомаркеров для неинвазивной диагностики эндометриоза. В целом авторы обзора отметили, что экспрессию микроРНК реже изучали в крови, а

чаще — в эктопическом и эутопическом эндометрии, что с практической точки зрения менее приемлемо для неинвазивной диагностики [126].

Наиболее часто среди всех изучаемых микроРНК описана дисрегуляция miR-145, хотя результаты не во всех исследованиях сопоставимы. Так, у пациенток с эндометриозом III–IV стадий по сравнению с начальными стадиями обнаружено повышение экспрессии miR-145 в сыворотке и плазме одними исследователями [146], и наоборот, повышение при начальных — другими [122]. Описано снижение экспрессии miR-145 по сравнению с пациентками без эндометриоза, но без уточнения стадии [47]. Участие miR-145 в патогенезе заболевания объясняют её ингибирующим влиянием miR-145 на клеточную пролиферацию и миграцию: относительное снижение экспрессии miR-145 при тяжелых стадиях эндометриоза могло усугубить пролиферацию эктопических очагов, что и наблюдают при данных стадиях болезни. Таким образом, снижение экспрессии miR-145 приводит к прогрессированию эндометриоза [70].

Повышение экспрессии miR-126 в эктопическом по сравнению с эутопическим эндометрием женщин с эндометриозом III–IV стадии обнаружила группа австралийских ученых [109]. Позже схожие результаты получили при всех стадиях эндометриоза без статистической разницы между ними [75]. Напротив, снижение экспрессии miR-126 в эктопическом эндометрии при тех же стадиях болезни описали китайские исследователи [76]. Известно, что снижение экспрессии miR-126 приводит к увеличению секреции эндотелием VCAM-1 — вещества, обеспечивающего адгезию и ангиогенез; VEGF-A — сосудистого фактора роста А, также отвечающего за формирование новых сосудов [112]. Обнаруженное снижение экспрессии miR-126 в эутопическом эндометрии пациенток с эндометриозом коррелировало с повышением экспрессии BCAR3 (от англ. breast cancer anti-estrogen resistance) — белком, обеспечивающим «злокачественное поведение» клеток путем стимулирования адгезии, миграции и инвазии [106].

Экспрессия в плазме miR-16 была повышена у 33 женщин с эндометриозом против 20 здоровых в исследовании американских коллег [130]. Напротив,

снижение экспрессии miR-16 во всех образцах эндометрия пациенток с эндометриозом, эндометриоидным раком яичника и раком эндометрия обнаружили авторы из Индии [58]. Позже ими же выявлено снижение сывороточной экспрессии miR-16 при тех же заболеваниях [141]. Считают, что подавление активности miR-16 приводит к повышению продукции её мишеней — VEGF-A и ЦОГ-2. Роль последней в патогенезе эндометриоза заключается в синтезе простагландинов, стимулировании неоангиогенеза и эстроген-опосредованной клеточной пролиферации [66]. Ещё одна мишень miR-16 — антиапоптотический белок BCL2, обеспечивающий выживание эктопических клеток эндометрия, так что снижение в крови экспрессии miR-16 при эндометриозе, возможно, приводит к повышению данного антиапоптотического белка [113].

Снижение экспрессии miR-183 обнаружено в эу- и эктопическом эндометрии страдающих эндометриозом по сравнению со здоровыми. Считают, что miR-183 стимулирует апоптоз эндометриальных стромальных клеток, негативно влияя на их способность к инвазии, но не влияя на их пролиферацию. Показано, что  $17\beta$ -эстрадиол, прогестерон и провоспалительные факторы (ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6) снижают экспрессию miR-183 в эндометриальных стромальных клетках. Из перечисленного заключили, что снижение экспрессии данной микроРНК приводит к развитию и прогрессированию эндометриоза [62].

Одновременная гиперэкспрессия в эутопическом эндометрии ITGB1 — ключевого участника клеточной адгезии и инвазии — позволила предположить, что miR-183 участвует в патогенезе эндометриоза путем регуляции экспрессии ITGB1 и может послужить потенциальным биомаркером заболевания, однако ее экспрессия в крови при эндометриозе в литературе не описана [114].

Неоднозначны результаты исследований экспрессии miR-20a: её повышение у женщин с ЭКЯ, причем только при стадиях III–IV, обнаружили Zhao M. и соавт. [96]. Напротив, экспрессия miR-20a в эктопических очагах оказалась ниже эутопических в других работах [59, 110]. В единичных работах изучали экспрессию miR-20a в крови: в одних обнаружили её снижение у больных эндометриозом в плазме, в других — в сыворотке. Роль данной микроРНК в патогенезе эндометриоза



объясняют ее влиянием на синтез белков межклеточных взаимодействий, ангиогенеза и многих других [59, 116, 131].

В нескольких работах обнаружена пониженная экспрессия представителей семейства miR-200 в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим и эндометрием здоровых женщин [45, 82]. Семейство miR-200 регулирует эпителио-мезенхимальный переход (изменение эпителиальными клетками эпителиального фенотипа на мезенхимальный — один из механизмов канцерогенеза) и метастазирование посредством множества белков, включая ZEB1 и E-кадгерин. Возможность дифференцировать женщин с эндометриозом и без него показана на основе плазменной экспрессии miR-200a: она была ниже у пациенток с III–IV стадией болезни [48]. В этой же работе показано влияние времени взятия биоматериала (утро/вечер) на уровни экспрессии микроРНК, что еще раз подчеркивает необходимость стандартизации исследований в области биомаркеров.

В упомянутом выше эпителио-мезенхимальном переходе выявлена роль miR-29b: описано её участие в развитии патологических процессов эпителия дыхательных путей [120]. Метилирование промотора miR-29b способствует ангиогенезу, инвазии и миграции клеток рака поджелудочной железы [161]. Описана роль представителей семейства miR-29 в патогенезе остеоартрита, остеопороза, кардиоренального синдрома, иммунных заболеваний [84]. Исследования же экспрессии семейства miR-29 при эндометриозе — единичные. Обнаружено повышение экспрессии miR-29c в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим и отсутствие разницы в экспрессии miR-29a и miR-29b в указанных образцах. Предположена супрессивная роль miR-29c в патогенезе эндометриоза, проявляющаяся в подавлении белка c-Jun — регулятора клеточной активности [121]. В эндометрии пациенток с эндометриозом обнаружили снижение экспрессии miR-29b по сравнению с эндометрием здоровых женщин, что связали с активацией синтеза NF-κB — фактора, контролирующего экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла. Его в свою очередь рассматривают в качестве участника в патогенезе эндометриоза [158]. Несколько работ посвящены

сниженной экспрессии miR-29b при эндометриальном раке: показан онкосупрессивный, антиангиогенный эффект данной микроРНК, регулирующей ключевые процессы онкотрансформации через множество сигнальных путей [64, 104]. Учитывая общность механизмов, лежащих в развитии и прогрессировании эндометриоза и рака эндометрия, логично было бы ожидать снижение плазменной экспрессии miR-29b у страдающих эндометриозом.

Перспективным биомаркером может стать miR-125b, повышенная экспрессия которой описана при ряде пролиферативных заболеваний (раке легкого, молочной железы, печени). В одной из работ показана ее диагностическая ценность в выявлении эндометриоза с чувствительностью 100% и специфичностью 96%, однако следует учесть, что большинство вошедших в исследование пациенток имели III–IV стадии заболевания [146]. Напротив, в другой работе показана высокая диагностическая ценность теста, основанного на экспрессии miR-125b, miR-28-5p и 29a-3p, в выявлении эндометриоза I–II стадий [132].

Повышенная относительно здоровых женщин экспрессия в сыворотке miR-125b у пациенток с перитонеальным эндометриозом коррелировала с повышением провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-6, синтезируемых макрофагами. Авторы подчеркивают, что способность влиять на функцию макрофагов и индуцировать воспаление доказывает системное действие эндометриоза на весь организм, а не только на органы малого таза [149]. Однако противоположны результаты более поздних работ: концентрации циркулирующих miR-125b и miR-199-3p не отличались среди контрольной группы и женщин с III–IV стадиями эндометриоза. Напротив, значительно снижены были уровни miR-451a and miR-3613-5p в плазме пациенток с эндометриозом, при этом ROC-анализом получена достаточна большая площадь под кривой для указанных маркеров: 0,828 и 0,762, соответственно [49].

Единичны исследования miR-222 при эндометриозе, тогда как множество работ обнаруживает связь этой микроРНК с эндометриальным раком.

Показана более высокая сывороточная экспрессия miR-222 при раке эндометрия по сравнению со здоровыми; экспрессия miR-222 в эндометриальном

раке была выше, чем в соседних тканях и коррелировала со степенью дифференцировки опухоли; метастазами в лимфатические узлы. Обнаружено, что miR-222 ингибирует клеточный апоптоз, повышает инвазивность и в целом участвует в возникновении и прогрессировании опухолей регулированием множества генов-мишеней, в том числе взаимодействуя с эстрогеновыми рецепторами [124].

Сниженная эндометриальная экспрессия miR-222 при эндометриозе коррелировала с повышением провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$ , причем его добавление в среду с культивируемыми эндометриальными клетками дозозависимо снижало экспрессию в них miR-222, miR-125b и miR-126 [155, 158].

Впервые диагностическая ценность 109 микроРНК при анализе слюны показана французскими учеными, притом изменение экспрессии только 4 из них ранее было описано при эндометриозе [143]. Проведенные исследования позволили разработать первый коммерческий неинвазивный тест с высокой чувствительностью (97%) и специфичностью (100%) [85]. Безусловно, слюна — наиболее простой для получения биоматериал, к тому же концентрации микроРНК в ней стабильны.

Еще одним удобным источником биомаркеров могут стать влагалищные выделения: обнаруженная статистически значимая разница экспрессии экзосомальных miR-202-3p и miR-202-5p у пациенток с эндометриозом и без него доказывает перспективность разработки теста для самодиагностики без посещения врача [168].

Каждая новая работа, посвященная экспрессии микроРНК при эндометриозе, вносит свой вклад в понимание их роли и одновременно бросает очередной вызов исследователям. Так, Bendifallah S. и соавт. обнаружили 86 ассоциированных с эндометриозом микроРНК, и только 45% из них были описаны до этого у человека, а из них всего одна — при эндометриозе [111]. Данный факт подчеркивает огромный научный потенциал в изучении некодирующих РНК, однако разнородность и несистемность исследований пока не позволили достичь успеха в поисках доказанно эффективного биомаркера эндометриоза.

**Резюме.** Публикуемые результаты исследований экспрессии микроРНК отражают их низкую сопоставимость. Несмотря на то, что в ряде работ обнаружены пригодные для диагностических целей циркулирующие микроРНК, неоднородность дизайна исследований, исследуемых образцов, методов анализа и нормализации делают результаты трудновоспроизводимыми. Плохая воспроизводимость обусловлена различающимися фазами менструального цикла, во время которых производили забор биоматериала, временем суток, наличием сопутствующих заболеваний, различием форм эндометриоза и его стадиями, «стажем» заболевания и предшествующим лечением, а также множеством других факторов. Наконец, ни одна из циркулирующих микроРНК не была успешно испытана у пациенток после эндовидеоскопической верификации эндометриоза и при его доказанном отсутствии [125].

## ГЛАВА 2. ПРОГРАММА, КОНТИНГЕНТ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа представляет собой проспективное исследование вида «случай–контроль», выполненное в период 2017–2022 гг. на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии (зав. кафедрой — засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, д.м.н., проф. В.Е. Радзинский) медицинского института (МИ) РУДН — в отделении гинекологии ГБУЗ «ГКБ №29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ» (зав. отделением — к.м.н. Д.Г. Арютин) и в филиале №1 «Женская консультация» (зав. филиалом — к.м.н. Л.Д. Оразмурадова).

Дизайн исследования представлен на Рисунке 2.1. Для выяснения госпитализированный заболеваемости НГЭ проанализированы причины госпитализаций в отделение гинекологии ГБУЗ «ГКБ №29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ» за календарный год. В 2017 г. в отделение гинекологии было госпитализировано 5427 пациенток, из них с диагнозом «N80 Эндометриоз» — 139 (2,6%). Доля женщин, поступивших с диагнозами, кодируемыми как НГЭ (N80.1–80.3; n=128), составила 2,4% всех госпитализированных за год и 92,1% всех пациенток с эндометриозом.

Проведенный анализ показал, что у большинства пациенток основной группы, страдающих НГЭ, был диагностирован эндометриоз яичников (N80.1), что, на наш взгляд, обусловлено относительной простотой обнаружения эндометриом (бимануальное, ультразвуковое исследования) в сравнении с «малыми» перитонеальными формами, верифицировать которые без лапароскопической визуализации невозможно (Рисунок 2.2).

В соответствии с критериями включения и исключения в исследование вошли 80 женщин репродуктивного возраста (15–49 лет) [135], направленных на плановую лапароскопию в гинекологическое отделение по причине бесплодия, хронических воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ), эндометриоза.

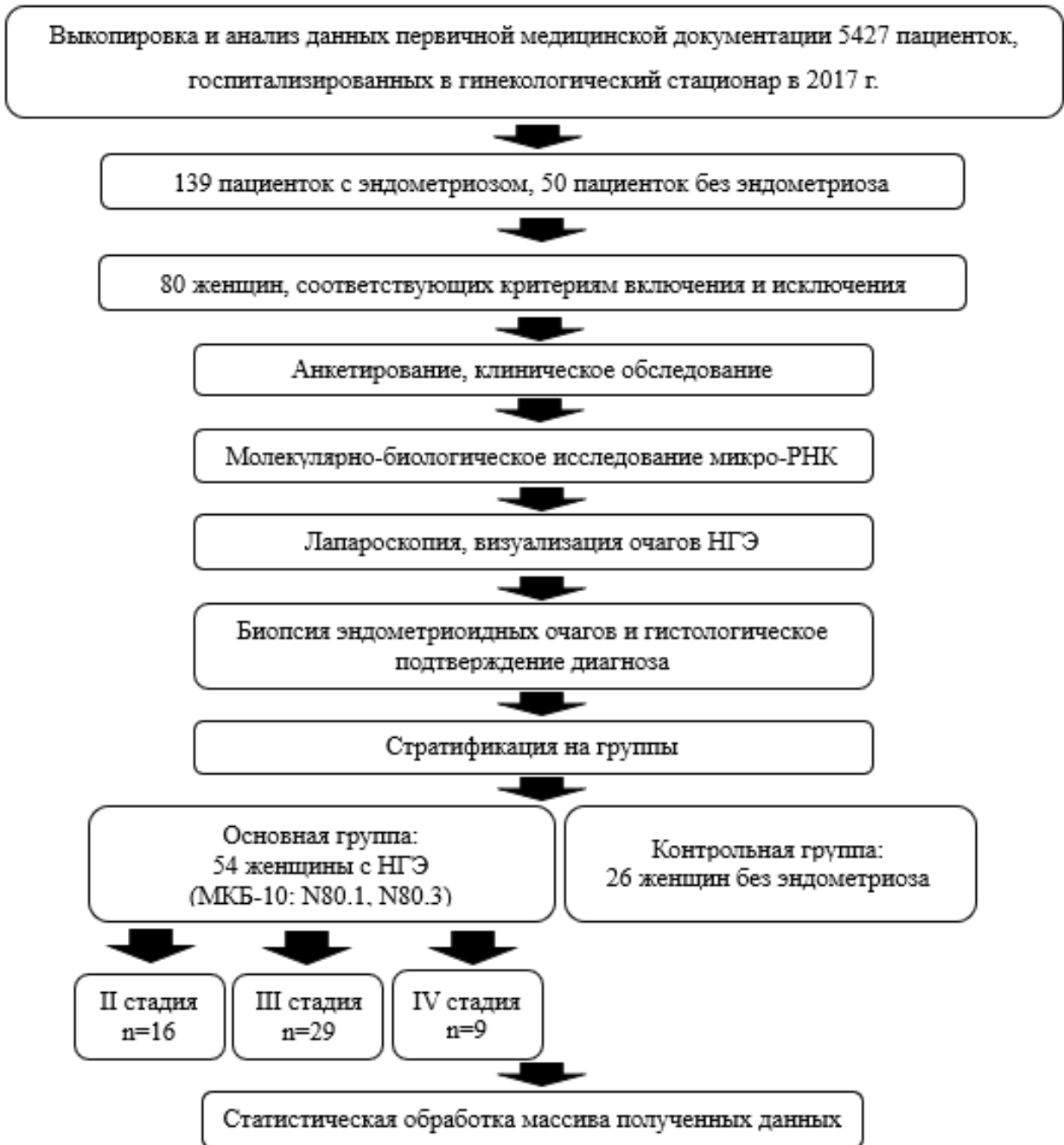


Рисунок 2.1 — Дизайн исследования

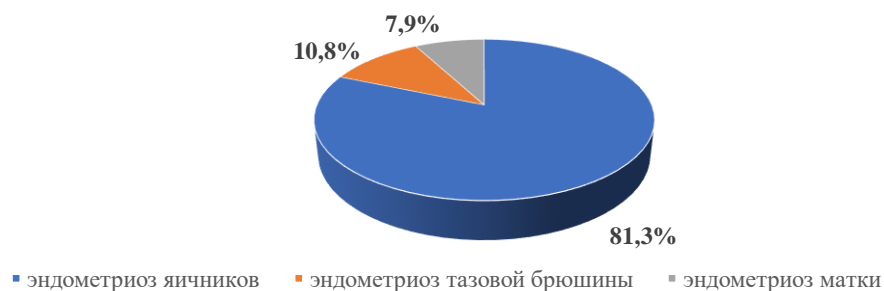


Рисунок 2.2 — Структура пациенток с эндометриозом, госпитализированных в 2017 г. в ГБУЗ «ГКБ №29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ»

По результату лапароскопии и гистологического исследования пациентки разделены на 2 группы:

I группа «основная» — 54 пациентки с лапароскопически и морфологически подтвержденным НГЭ (МКБ-10 N80.1, N80.2, N80.3);

II группа «контроль» — 26 пациенток, у которых лапароскопически не обнаружен НГЭ. В данную группу вошли женщины с хроническим сальпингитом и оофоритом (N70.1), бесплодием трубного происхождения (N97.1), тазовыми перитонеальными спайками (N73.6).

Критерии включения женщин в основную группу: репродуктивный возраст, плановая госпитализация для лапароскопического вмешательства, лапароскопически и гистологически подтвержденный НГЭ (Рисунок 1), согласие на участие в исследовании и использование персональных данных. Критерии включения женщин во II группу («контроль»): репродуктивный возраст, плановая госпитализация для лапароскопического вмешательства, отсутствие лапароскопических и гистологических признаков НГЭ. Критерии исключения: злокачественные опухоли, острые воспалительные заболевания, в том числе органов малого таза; аденомиоз; опухоли яичников; беременность и период лактации; отказ от участия в исследовании.

Все пациентки предоперационно обследованы в соответствии с действовавшим Приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 ноября 2012 г. № 572н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»" и клиническими рекомендациями [7, 11].

Клиническое обследование включало:

- сбор жалоб и анамнеза
- общий осмотр (с измерением артериального давления, пульса, роста и массы тела)
- гинекологическое исследование
- лабораторное обследование

- клинический анализ крови (концентрация эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, лимфоцитов, гемоглобина)
  - биохимический анализ крови (концентрация общего белка, мочевины, билирубина общего, креатинина, глюкозы, АЛТ, АСТ)
  - коагулограмма (протромбиновый индекс, АЧТВ, МНО, протромбиновое время, концентрация фибриногена)
  - клинический анализ мочи (относительная плотность, концентрация белка, глюкозы, билирубина; количество эритроцитов, лейкоцитов)
  - определение группы крови и резус-фактора
  - исследование онкомаркеров (СА-125, НЕ4, СА19-9)
  - микроскопическое и бактериологическое исследование отделяемого половых органов
  - цитологическое исследование соскоба с шейки матки
  - молекулярно-биологическое исследование уроней miR-183, miR-125b, miR-126, miR-16, miR-15a, miR-200a, miR-20a, miR-21, miR-222 и miR-29b
- электрокардиографию
  - УЗИ органов малого таза и вен нижних конечностей
  - рентгенографию органов грудной клетки
  - гистологическое исследование макро- и микропрепаратов: стенок эндометриоидных кист и эндометриоидных гетеротопий

УЗИ органов малого таза выполнено на аппарате Voluson E6 GE Healthcare (США) с помощью мультисекторного внутриматочного датчика для акушерства, гинекологии частотой 4-9 МГц.

При помощи эндовидеохирургической системы Karl Storz (ФРГ) выполнена лапароскопия, во время которой установлена стадия НГЭ согласно шкале rAFS [137], выявлен спаечный процесс, удалены ЭКЯ и коагулированы либо иссечены очаги перитонеального эндометриоза.

Полученный интраоперационно материал для гистологической верификации диагноза исследован в патологоанатомическом отделении ГБУЗ «ГКБ №29



им. Н.Э. Баумана ДЗМ». Материал фиксировали в 10% растворе формалина, затем образцы залили в парафин и из полученных блоков получили гистологические срезы. Окрашенные гематоксилином и эозином срезы изучали при микроскопии.

Предоперационно у всех пациенток взят образец крови для молекулярно-биологического исследования уровней 10 микроРНК: miR-183, miR-125b, miR-126, miR-16, miR-15a, miR-200a, miR-20a, miR-21, miR-222 и miR-29b. После центрифугирования отделившуюся плазму хранили в морозильной камере до молекулярно-биологического исследования, выполненного в лаборатории молекулярной генетики (зав. лабораторией — д. биол. наук А.В. Вершинин) федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук» (г. Новосибирск).

Методика секвенирования микроРНК. «Для выделения суммарной нуклеиновой кислоты в пробирку добавляли 600 мкл лизирующего буфера (4 М гуанидин изотиоцианат, 25 мМ цитрат натрия, 0,3% саркозил, 3% ДТТ), расфасованного в бескислородной атмосфере (ЗАО «Вектор-Бест», РФ). Пробирки помещали в термошейкер на 10 мин при 65°C. Раствор центрифугировали 2 мин при 10 000 g, переносили супернатант в новые пробирки и добавляли к нему равный объем изопропанола, перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 5 мин. Центрифугировали 10 мин при 12 000 g, супернатант сливали, осадок промывали: 500 мкл 70% этанола, затем 300 мкл ацетона. Нуклеиновые кислоты растворяли в 200 мкл деионизованной воды»

Выявление исследуемых и нормирующих РНК (РНК U6 и микроРНК 103a) выполнено по методике Chen и соавт. [134]. «Для каждой микроРНК отдельно проводили реакцию обратной транскрипции с последующей ПЦР-РВ. Для каждого образца реакции обратной транскрипции и ПЦР проводили в одном повторе» [10].

«Олигонуклеотиды выбирали с использованием онлайн-сервиса PrimerQuest<sup>™</sup> Tool [133]. Для каждой микроРНК подбирали несколько комплектов олигонуклеотидов, из которых выбирали те, которые характеризовались наиболее высокой эффективностью обратной транскрипции и ПЦР. Эффективность обратной

транскрипции оценивали по значениям пороговых циклов ( $C_q$ ), полученных при анализе синтетических аналогов микроРНК (ЗАО «Биосан», РФ), взятых в известной концентрации. Эффективность амплификации ( $E$ ) для каждой системы оценивали с помощью построения калибровочной кривой, построенной по разведениям РНК, выделенной из клинических проб с высоким содержанием данной микроРНК, на деионизованной воде.

Для обратной транскрипции использовали лиофилизированную смесь «Мастер-микс ОТ» (АО «Вектор-Бест», РФ). Реакцию проводили в течение 15 мин при  $16^\circ\text{C}$ , 15 мин при  $42^\circ\text{C}$ , затем обратную транскриптазу инактивировали 2 мин при  $95^\circ\text{C}$  и отбирали 3 мкл полученной смеси для ПЦР-РВ» [4].

«Для ПЦР-РВ использовали амплификатор CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США) и лиофилизированные смеси «Мастер-микс ПЦР» (АО «Вектор-Бест», РФ). Протокол ПЦР: предварительный прогрев при  $94^\circ\text{C}$  — 2 мин, 50 основных циклов: денатурация при  $94^\circ\text{C}$  — 10 с, отжиг и элонгация:  $60^\circ\text{C}$  — 20 с. Для каждого образца анализ проводили в одном повторе. Нормировку содержания микроРНК проводили на геометрическое среднее содержания 2 референсных РНК (U6 и микроРНК 103) с помощью метода  $2^{-\Delta C_q}$ » [10, 96].

Представленные в работе значения уровней изученных микроРНК даны в виде  $2^{-\Delta C_t}$ . Соотношение уровней дано в виде  $2^{-\Delta C_t (\text{осн.})} / 2^{-\Delta C_t (\text{контроль})}$ , если уровень в группе пациенток с НГЭ превышала таковой в контрольной группе, и в виде  $2^{-\Delta C_t (\text{контроль})} / 2^{-\Delta C_t (\text{осн.})}$ , если наоборот.

Статистическая обработка данных выполнена в программах Statistica TIBCO Software Inc. и IBM SPSS. Сравнение двух независимых групп по количественному признаку выполнено при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни, более двух — Краскела-Уоллиса [93, 99]. Сравнение групп по качественному бинарному признаку выполнено при помощи критерия  $\chi^2$  и точному критерию Фишера, если частота признака меньше или равна 5 [77]. Для оценки диагностической ценности предложенных микроРНК использовали ROC-анализ и критерий Юдена (Youden) для выбора «точки отсечения» значения уровня микроРНК [165]. Для корреляционного анализа использовали непараметрический

критерий Спирмена и Кендалла [77]. Силу связи характеризовали по Chaddock R. [40]:

Значение коэффициента корреляции	Интерпретация
от 0 до 0,3	очень слабая
от 0,3 до 0,5	слабая
от 0,5 до 0,7	средняя
от 0,7 до 0,9	высокая
от 0,9 до 1	очень высокая

Математическая модель диагностики НГЭ построена на основе уравнения, полученного в ходе логистического регрессионного анализа. Оценка статистической значимости математической модели выполнена методом максимального правдоподобия; оценка значимости коэффициентов регрессоров — тестом Вальда. За уровень статистической значимости принято значение  $p < 0,05$  [9].

### ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОК

Структура причин, по которым обследуемые были направлены на лапароскопию, представлена на рисунке 3.1

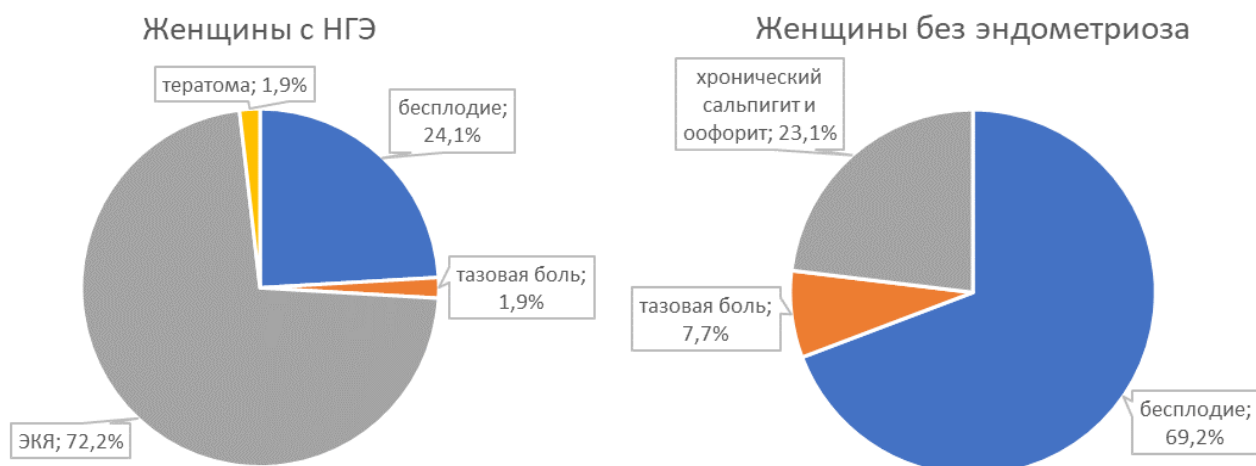


Рисунок 3.1 — Причины лапароскопии у обследованных пациенток

Как видно из рисунка, основной причиной для лапароскопии у пациенток с эндометриозом стал факт выявления ЭКЯ — 39 женщин (72,2%). 1 пациентка была направлена в связи с подозрением на тератому, однако лапароскопически и гистологически верифицирована ЭКЯ. Наиболее частой причиной, по которой были направлены на лапароскопию женщины без эндометриоза, стало бесплодие — 18 женщин (69,2%).

Возраст обследованных представлен в Таблице 3.1.

Таблица 3.1 — Средний возраст обследованных

	N	Возраст, лет				
		Среднее	-95% ДИ	+95% ДИ	мин.	макс.
Все обследованные	80	33,2	31,5	34,8	20,0	48,0
Женщины с НГЭ	54	33,7	31,8	35,7	20,0	48,0
II стадия	16	36,5	32,6	40,4	26,0	48,0
III стадия	29	31,9	29,3	34,4	20,0	48,0
IV стадия	9	34,9	29,2	40,6	24,0	45,0
Женщины контрольной группы	26	31,7	28,7	34,6	20,0	43,0

Все обследованные женщины были в возрасте от 20 до 48 лет. Средний возраст пациенток обеих групп статистически не различался ( $p=0,204$ ).

В таблице 3.2 представлены данные об уровне образования обследованных.

Таблица 3.2 — Уровень образования обследованных

	N	Среднее общее		Среднее профессиональное		Высшее профессиональное		Послеу- зоровское професси- ональное		Всего среднее		Всего высшее	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Все обследованные	80	9	11,3	13	16,3	49	61,3	9	11,3	22	27,5	58	72,5
с НГЭ	54	2	3,7	10	18,5	36	66,7	6	11,1	12	22,2	42	77,8
без эндометриоза	26	7	27,0	3	11,5	13	50,0	3	11,5	10	38,5	16	61,5

Среди обследованных преобладали пациентки с высшим образованием (72,5%). Статистически значимых отличий между группами по уровню образования не выявлено.

Частота табакокурения среди обследованных представлена в таблице 3.3.

Таблица 3.3 — Частота табакокурения

	N	Курят в настоящее время		<i>p</i>	Выкурили более 100 сигарет за жизнь		<i>p</i>
		абс.	%		абс.	%	
Все обследованные	80	5	6,3	0,47	9	11,3	0,39
с НГЭ	54	4	7,4		7	13,0	
без эндометриоза	26	1	3,8		2	7,7	

Из таблицы 3.3 видно, что более 100 сигарет за жизнь выкурила каждая девятая обследованная. Такие женщины в 1,7 раза преобладали среди пациенток с НГЭ, но статистически не значимо (критерий Фишера,  $p=0,39$ ). В этой же группе было статистически не значимо в 1,9 раза больше курящих на момент анкетирования (критерий Фишера,  $p=0,47$ ).

ИМТ пациенток представлен в таблице 3.4.

Таблица 3.4 — Индекс массы тела обследованных

	N	Средний ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	-95% ДИ	+95% ДИ
Все обследованные	80	21,64	20,48	22,79
с эндометриозом / стадия	54	21,55	20,28	22,81
II стадия	16	22,69	19,68	25,70
III стадия	29	20,56	18,82	22,30
IV стадия	9	22,76	19,77	25,74
без эндометриоза	26	21,95	18,68	25,22

ИМТ пациенток обследованных групп также статистически не различался ( $p=0,671$ ). Для женщин с НГЭ не была характерна избыточная масса тела. И хотя для IV стадии средний ИМТ оказался выше, чем для II и III, статистические различия между женщинами в различных стадиях заболевания оказались не значимы ( $p>0,05$ ).

Данные о менструальной функции отражены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 — Характеристики менструальной функции обследованных

	N	Средний возраст менархе, годы	Средняя продолжительность менструации, дни	Средняя продолжительность менструального цикла, дни
Все обследованные	80	13,3±1,42	5,3±1,13	28,0±2,67
с НГЭ	54	13,3±1,6	5,5±1,1	28,1±2,8
II стадия	16	14,0±1,8	5,6±0,9	27,2±2,8
III стадия	29	13,1±1,8	5,4±1,2	28,1±3,2
IV стадия	9	13,5±1,8	5,8±1,3	29,2±2,4
без эндометриоза	26	13,5±0,9	5,0±1,0	27,8±2,5

Статистически значимых различий по указанным параметрам не выявлено ( $p>0,05$ ). Все показатели менструальной функции укладывались в нормальный диапазон. Отмечено статистически не значимое увеличение средней продолжительности менструального цикла в зависимости от степени тяжести эндометриоза ( $p=0,101$ ).

Данные репродуктивного анамнеза представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.6 — Репродуктивный анамнез обследованных, mean±std. dev

	Все пациентки	Женщины с эндометриозом	Женщины без эндометриоза
Беременности	1,0±1,4	1,0±1,4	0,9±1,3
Роды	0,7±0,9	0,7±0,8	0,7±1,2
Искусственные аборты	0,4±0,7	0,4±0,8	0,4±0,7
Самопроизвольные аборты	0,2±0,5	0,2±0,5	0,2±0,4

По представленным показателям репродуктивного анамнеза группы не различались ( $p > 0,05$ ). Для пациенток обеих групп характерны малое количество беременностей в анамнезе (в среднем 1 беременность на пациентку) и низкий паритет (среднее количество родов менее 1). Отсутствие родов в анамнезе отмечено у 61,1% пациенток с НГЭ и 92,3% женщин контрольной группы ( $p = 0,0039$ ).

В таблице 3.7 отражена структура соматической заболеваемости обследованных пациенток (без учета гинекологических заболеваний).

Таблица 3.7 — Соматическая заболеваемость обследованных

Группа		Болезни крови ... D50-89		Болезни мочеполовой си- стемы N00-N99		Болезни нервной системы G00-G99		Болезни органов дыхания J00-J99		Болезни органов пищева- рения K00-K93		Болезни системы кровообращения I80-I89		Болезни эндокринной си- стемы, расстройства пита- ния и нарушения обмена веществ E00-E90		Болезни кожи и подкож- ной клетчатки L00-L99		Болезни глаза и его при- даточного аппарата H00-H59	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Все обследованные	80	11	13,8	2	2,5	5	6,3	1	1,3	36	45,0	10	12,5	8	10,0	2	2,5	2	2,5
с НГЭ	54	9	16,7	1	1,9	4	7,4	1	1,9	30	55,6	7	13,0	5	9,3	2	3,7	2	3,7
без эндометриоза	26	2	7,7	1	3,8	1	3,8	0	0,0	6	23,1	3	11,5	3	11,5	0	0,0	0	0,0
<i>p</i> критерия $\chi^2$		0,275		0,593		0,538		0,485		0,006		0,857		0,750		0,320		0,320	

Из таблицы 3.7 видно, что болезни крови, органов пищеварения, кровообращения значительно преобладали среди пациенток с эндометриозом, но статистически значимое различие выявлено только по частоте заболеваний органов пищеварения ( $p=0,006$ ).



В свою очередь среди болезней пищеварительной системы (таблица 3.8) преобладали хронический гастрит (37,5% всех женщин), дуоденит (10%) и синдром раздраженного толстого кишечника (5,0%).

Таблица 3.8 — Частота заболеваний органов пищеварения

	N	Хронический гастрит		Дуоденит		Гастроэзофагеальный рефлюкс		Камни желчного пузыря		Язва желудка		Синдром раздраженного кишечника		Колит		Эзофагит		Грыжа пищеводного отверстия	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Все обследованные	80	30	37,5	8	10,0	3	3,8	3	3,8	1	1,3	4	5,0	1	1,3	1	1,3	1	1,3
с НГЭ	54	25	46,3	7	13,0	3	5,6	2	3,7	1	1,9	3	5,6	1	1,9	1	1,9	1	1,9
без эндометриоза	26	5	19,2	1	3,8	0	0,0	1	3,8	0	0,0	1	3,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
$p$ критерия $\chi^2$		0,019		0,203		0,220		0,975		0,485		0,743		0,485		0,485		0,485	

Частота хронического гастрита у женщин с НГЭ по сравнению с женщинами без эндометриоза была в 2,4 раза статистически значимо выше ( $p=0,019$ ). У них же в 3,4 раза выше частота дуоденита, но статистически не значимо ( $p=0,203$ ). Незначительно чаще (в 1,5 раза) у пациенток с НГЭ диагностирован синдром раздраженного толстого кишечника ( $p=0,743$ ).

Болезни крови у обследованных были представлены тромбоцитопенией и анемией с преобладанием последней (таблица 3.9).

Таблица 3.9 — Частота болезней крови

	N	Тромбоцитопения		Анемия	
		абс.	%	абс.	%
Все обследованные	80	1	1,3%	10	12,5%
с НГЭ	54	1	1,9%	8	14,8%
без эндометриоза	26	0	0%	2	7,7%
$p$ критерия $\chi^2$		0,485		0,367	

У каждой восьмой обследованной диагностирована анемия, а её частота у пациенток с НГЭ оказалась в 1,9 раза выше, но статистически не значимо ( $p=0,174$ ).

Структура гинекологической заболеваемости представлена в таблице 3.10.

Таблица 3.10 — Гинекологическая заболеваемость обследованных

Группа	N	N73.6. Тазовые перитонеальные спайки у женщин		N97. Женское бесплодие		N70.1. Хронический салпингит и оофорит		D25. Лейомиома матки		N60. Дораквацественная дисплазия молочной железы		N94. Болевые и другие состояния, связанные с женскими половыми органами и менструальным циклом		N86. Эрозия и эктропион шейки матки	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Все обследованные	80	64	80,0	31	38,8	20	25,0	11	13,8	10	12,5	8	10,0	2	2,5
с НГЭ	54	47	87,0	13	24,1	4	7,4	7	13,0	8	14,8	6	11,1	2	3,7
без эндометриоза	26	17	65,4	18	69,2	16	61,5	4	15,4	2	7,7	2	7,7	0	0,0
$p$ критерия $\chi^2$		0,031		0,0001		0,0000		0,768		0,367		0,633		0,320	

Анализ гинекологической заболеваемости выявил, что частота бесплодия в контрольной группе оказалась статистически значимо в 2,9 раза выше ( $p=0,0001$ ). Первичным бесплодие было у 11 (84,6%) из 13 женщин с НГЭ и у 7 (38,9%) из 18 женщин контрольной группы. Спаечный процесс в малом тазу выявлен у 80,0% обследованных, со статистически значимым ( $p=0,031$ ) его преобладанием в 1,3 раза у женщин с эндометриозом (ОШ=1,89; 95% ДИ: 1,15–11,04). Напротив, в контрольной группе была статистически значимо выше в 8,3 раза частота хронических воспалительных заболеваний придатков матки (критерий Фишера,  $p=0,0000$ ) и статистически незначимо в 1,2 раза выше частота лейомиомы матки ( $p=0,508$ ), а у пациенток с эндометриозом в 1,9 раза выше частота дисплазии молочных желез (также статистически не значимо,  $p=0,304$ ).

Пациентки с эндометриозом в 1,44 раза чаще жаловались на тазовую боль, но различия статистически не значимы (критерий Фишера,  $p=0,4843$ ).

Частота бесплодия по подгруппам пациенток с НГЭ представлена в таблице 3.11.

Таблица 3.11 — Частота бесплодия среди женщин с НГЭ

	N	%
Женщины с НГЭ и бесплодием / стадия	13	100
II	6	46,2
III	6	46,2
IV	1	7,7

Как видно из таблицы 3.11, стадия эндометриоза не коррелировала с наличием бесплодия: оно отмечено только у одной из 9 (11,1%) пациенток с IV стадией и его частота статистически значимо не различалась в подгруппах ( $p>0,05$ ).

В таблице 3.12 представлена частота спаечного процесса в зависимости от стадии эндометриоза.

Таблица 3.12 — Частота спаечного процесса у пациенток с НГЭ

стадия	Все пациентки		Спаечный процесс в малом тазу		<i>p</i>
	абс.		абс.	%	
II	16		12	75,0	0,240
III	29		25	96,2	
IV	9		9	100	

Не выявлено статистически значимых различий между частотой спаечного процесса среди женщин с различной стадией НГЭ (критерий Краскела-Уоллиса,  $p>0,05$ ), однако выявлена статистически значимая очень слабой силы корреляция между спаечным процессом и стадией НГЭ (критерий Кендалла  $\tau = 0,219$ ,  $p=0,019$ ) (Рисунок 3.2).

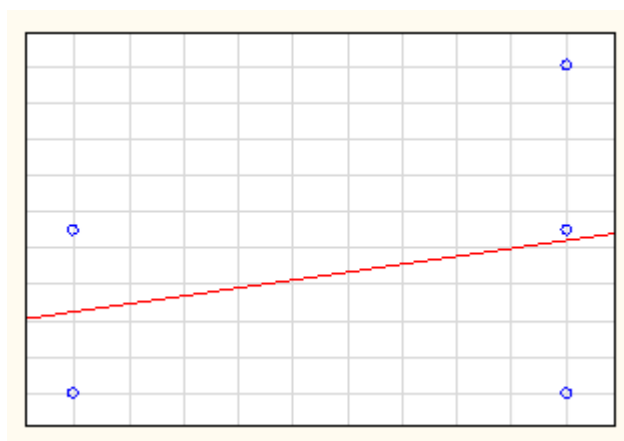


Рисунок 3.2 — Корреляция между спаечным процессом и стадией НГЭ

Данные о перенесенных оперативных вмешательствах представлены в таблице 3.13.

Таблица 3.13 — Оперативные вмешательства в анамнезе

Группа	N	Аппендэктомия		Тонзиллэктомия		Холецистэктомия		Операции на шейке матки		Кесарево сечение		Сальпингэктомия		Раздельное диагностическое выскабливание		Другие лапароскопические операции	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Все обследованные	80	7	8,8	1	1,3	1	1,3	6	7,5	1	1,3	5	6,3	7	8,8	10	12,5
с НГЭ	54	4	7,4	1	1,9	1	1,9	5	9,3	1	1,9	2	3,7	3	5,6	8	14,8
без эндометриоза	26	3	11,5	0	0,0	0	0,0	1	3,8	0	0,0	3	11,5	4	15,4	2	7,7
<i>p</i> критерия $\chi^2$		0,540		0,485		0,485		0,389		0,485		0,175		0,145		0,367	

Частота раздельных диагностических выскабливаний была в 2,8 раза, сальпингэктомий в 3,1 раза, аппендэктомий в 1,6 раза выше в группе женщин без НГЭ, но статистически значимых различий между группами по оперативным вмешательствам не выявлено ( $p > 0,05$ ).

Количество пациенток с конкретной стадией НГЭ, определенной во время лапароскопии, представлено в таблице 3.14.

Таблица 3.14 — Распределение пациенток по стадиям НГЭ

	Абс.	%
Всего / стадия	54	100
II	16	29,6
III	29	53,7
IV	9	16,7

Как видно из таблицы, у более чем половины пациенток (70,4%) выявлены поздние стадии заболевания (III–IV), а у каждой шестой (16,7%) — IV стадия. Пациенток с I стадией в исследовании не оказалось.

В таблице 3.15 приведена частота ЭКЯ у обследованных женщин с НГЭ.

Таблица 3.15 — Частота эндометриоидных кист яичников

	Абс.	%
Все женщины с НГЭ	54	100
с эндометриоидными кистами:	50	92,6
— односторонними	42	77,8
— двусторонними	8	14,8
без эндометриоидных кист	4	7,4

Как видно из таблицы, у большинства пациенток с НГЭ обнаружены ЭКЯ, преимущественно (77,8%) — односторонние.

**Резюме.** Клинико-anamнестический анализ позволяет заключить, что исследуемые группы сопоставимы между собой. Не выявлено статистически значимых различий по среднему возрасту, уровню образования, ИМТ, менструальной и репродуктивной функциям, частоте табакокурения, структуре перенесенных оперативных вмешательств.

Тем не менее, пациентки с эндометриозом отличались более высокой частотой заболеваний пищеварительной системы, а именно хронического гастрита ( $p=0,019$ ); анемии ( $p=0,174$ ); доброкачественной дисплазии молочной железы ( $p=0,304$ ); спаечного процесса в брюшной полости ( $p=0,031$ ).

Для женщин изучаемой когорты оказались характерны малое число беременностей в анамнезе (в среднем  $1,0 \pm 1,4$ ) и низкий паритет (в среднем  $0,7 \pm 0,9$  родов), что можно объяснить высокой частотой бесплодия (при НГЭ — 24,1%, в контроле — 69,2%,  $p < 0,0001$ ). На отсутствие родов в анамнезе указывали 61,1% пациенток с НГЭ (в контроле — 92,3%,  $p = 0,0039$ ).

Не обнаружено зависимости частоты бесплодия от степени тяжести эндометриоза, но стоит принять во внимание неравное количество пациенток с конкретной стадией болезни.

У большинства всех обследованных женщин бесплодие первичное — его доля статистически значимо в 2,2 раза выше у пациенток с НГЭ ( $p=0,013$ ). В свою очередь бесплодие у данных женщин — возможное следствие высокой частоты спаечного процесса, обнаруженного интраоперационно у 80,0% обследованных, со статистическим значимым преобладанием у женщин с эндометриозом ( $p=0,031$ ) без

статистически значимой разницы его частоты по стадиям НГЭ, но со слабой силы корреляцией между стадией НГЭ и наличием спаечного процесса ( $p=0,019$ ).

Напротив, у женщин без НГЭ была статистически значимо выше ( $p=0,0000$ ) частота хронических воспалительных заболеваний придатков матки — это можно объяснить критериями включения в данную группу (в нее вошли пациентки, подвергнутые лапароскопии по причине бесплодия или диагностированных хронических воспалительных заболеваний придатков матки).

Распределение пациенток по степени тяжести эндометриоза — отсутствие женщин с I стадией, превалирование (70,4%) III–IV стадии — еще раз доказывает несвоевременность диагностики заболевания с многолетней её задержкой. Высокая частота ЭКЯ (92,6%) среди вошедших в наше исследование пациенток с эндометриозом, вероятно, обусловлена относительной простотой их диагностики и сокращением времени «ожидания» оперативного лечения.

Статистически значимыми клиничко-анамнестическими факторами риска эндометриоза стали заболевания пищеварительной системы (ОШ=9,4; 95% ДИ 3,5–25,3), а именно хронический гастрит (ОШ=2,7; 95% ДИ 1,1–6,8). Спаечный процесс в малом тазу, частота которого была в 1,3 раза выше у пациенток с НГЭ, статистически значимо ассоциирован с НГЭ (ОШ=1,89; 95% ДИ: 1,15–11,04).

## ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В таблице 4.1 представлены результаты клинического анализа крови обследованных.

Таблица 4.1 — Показатели клинического анализа крови, mean±std. dev.

	N	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, *10 <sup>12</sup> /л	Лейкоциты, *10 <sup>9</sup> /л	Тромбоциты, *10 <sup>9</sup> /л
Все обследованные	80	126,9±12,9	4,3±0,5	6,8±2,4	257,7±61,0
с эндометриозом / стадия	54	127,3±14,3	4,6±0,5	6,8±2,3	262±57,2
II	16	127,3±16,1	4,4±0,4	7,0±2,0	251,6±71,1
III	29	126,7±14,7	4,3±0,6	6,9±2,6	260,2±55,2
IV	9	129,1±11,5	4,4±0,4	6,4±1,9	283,0±34,2
без эндометриоза	26	125,6±6,6	4,1±0,3	6,7±2,7	243,1±73,1
<i>p</i> различий между группами		0,411	0,071	0,916	0,152

Средние значения описанных показателей находились в пределах референсных значений. Не выявлено статистически значимой разницы в параметрах клинического анализа крови между пациентками с эндометриозом и без него и между пациентками с различными стадиями эндометриоза ( $p > 0,05$ ), однако выявлена статистически значимая слабой силы положительная корреляция концентрации тромбоцитов со стадией НГЭ (критерий Кендалла  $\tau = 0,21$ ,  $p = 0,035$ ) (рисунок 4.1).

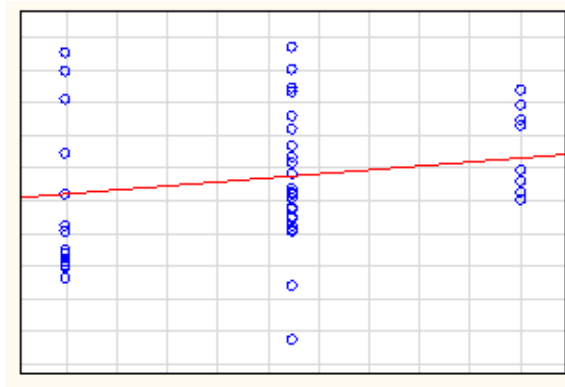


Рисунок 4.1 — Корреляция концентрации тромбоцитов со стадией НГЭ

В таблице 4.2 представлены результаты анализа свёртывающей системы крови (коагулограмма).

Таблица 4.2 — Коагулограмма, mean±std. dev.

	N	Протромбиновый индекс, %	АЧТВ, с	МНО	Протромбиновое время, с	Фибриноген, г/л
Все обследованные	80	93,9±11,6	31,2±3,1	1,0±0,1	13,6±2,8	3,0±0,9
с эндометриозом	54	93,6±12,4	30,6±2,8	1,1±0,1	14,1±3,0	3,1±0,9
II стадия	16	93,2±10,4	30,8±1,8	1,0±0,1	13,9±1,8	2,9±0,8
III	29	93,7±13,4	30,4±2,8	1,1±0,1	13,6±2,6	2,9±0,5
IV	9	94,0±13,3	30,8±4,4	1,1±0,1	16,9±6,1	3,5±1,5
без эндометриоза	26	94,7±9,0	32,9±3,4	1,0±0,1	12,2±1,5	2,8±1,0
<i>p</i> различий между группами		0,710	0,034	0,854	0,104	0,288

Обнаружена статистически значимая разница АЧТВ между пациентками с эндометриозом и без него (критерий Манна–Уитни,  $p=0,03$ ). Между пациентками с различными стадиями эндометриоза статистически значимой разницы по показателям коагулограммы не обнаружено ( $p>0,05$ ).

В таблице 4.3 представлены результаты биохимического анализа крови.

Таблица 4.3 — Биохимический анализ крови, mean±std. dev.

	N	Белок, г/л	Мочевина, мкмоль/л	АЛТ, ед/л	АСТ, ед/л	Билирубин общий, мкмоль/л	Креатинин, мкмоль/л	Глюкоза, ммоль/л
Все обследованные	80	73,1±4,1	4,3±1,0	17,4±7,7	18,9±4,9	10,9±6,1	65,5±11,6	4,9±0,6
с эндометриозом / стадия	54	73,1±4,2	4,3±0,9	17,6±7,7	18,8±5,2	9,2±3,6	65,1±11,8	4,8±0,7
II	16	74,4±4,7	5,0±0,8	20,0±8,0	20,0±4,6	7,5±2,8	67,7±12,2	4,7±0,7
III	29	72,8±3,9	4,1±0,9	17,4±8,1	19,1±5,6	9,1±2,9	64,0±12,3	4,9±0,7
IV	9	71,8±4,1	4,1±0,9	14,2±5,1	15,6±4,0	12,6±5,8	64,1±10,4	5,0±0,4
без эндометриоза	26	73,1±3,9	4,4±1,3	16,7±7,9	19,0±4,1	16,1±9,1	66,8±11,4	5,0±0,6
<i>p</i> различий между группами		0,956	0,549	0,601	0,798	0,017	0,617	0,259

Обнаружена статистически значимая разница в концентрации общего билирубина между пациентками с эндометриозом и без него (критерий Манна–Уитни,  $p=0,017$ ). Между пациентками с различными стадиями эндометриоза



статистически значимой разницы по показателям биохимического анализа крови не выявлено ( $p>0,05$ ), но выявлена статистически значимая положительная корреляция очень слабой силы концентрации общего билирубина (критерий Кендалла  $\tau = 0,28$ ,  $p=0,018$ ); отрицательная корреляция очень слабой силы концентрации АЛТ ( $\tau = -0,29$ ,  $p=0,010$ ) и отрицательная корреляция слабой силы концентрации мочевины ( $\tau = -0,29$ ,  $p=0,010$ ) со стадией НГЭ (таблица 4.4).

Таблица 4.4 — Корреляция показателей биохимического анализа крови со стадией эндометриоза

	Критерий Кендалла	p
стадия & Белок общий	-0,17	0,130
стадия & Мочевина	-0,39	0,003
стадия & АЛТ	-0,29	0,010
стадия & АСТ	-0,20	0,076
стадия & Билирубин общий	0,28	0,018
стадия & Креатинин	-0,10	0,368
стадия & Глюкоза	0,14	0,268

У пациенток с ЭКЯ исследованы уровни 3 онкомаркеров сыворотки крови (таблица 4.5, рисунок 4.2).

Таблица 4.5 — Онкомаркеры сыворотки крови

	Me	-95% ДИ	+95% ДИ	Мин.	Макс.	Пороговое значение	Доля пациенток с уровнем выше порогового, %
СА-125, ед/мл	26,61	56,08	88,44	5,4	426,3	35 Ед/мл	31,6
НЕ4, пмоль/л	43,34	9,37	18,00	24,4	75,6	70 пмоль/л	5,0
СА-19-9, ед/мл	13,6	11,57	19,03	0,01	68,67	35 Ед/мл	12,1

Из таблицы видно, что медианы уровней онкомаркеров находились в пределах референсных значений и лишь у каждой третьей, двадцатой и восьмой пациентки уровни соответствующих онкомаркеров выходили за пределы пороговых значений.

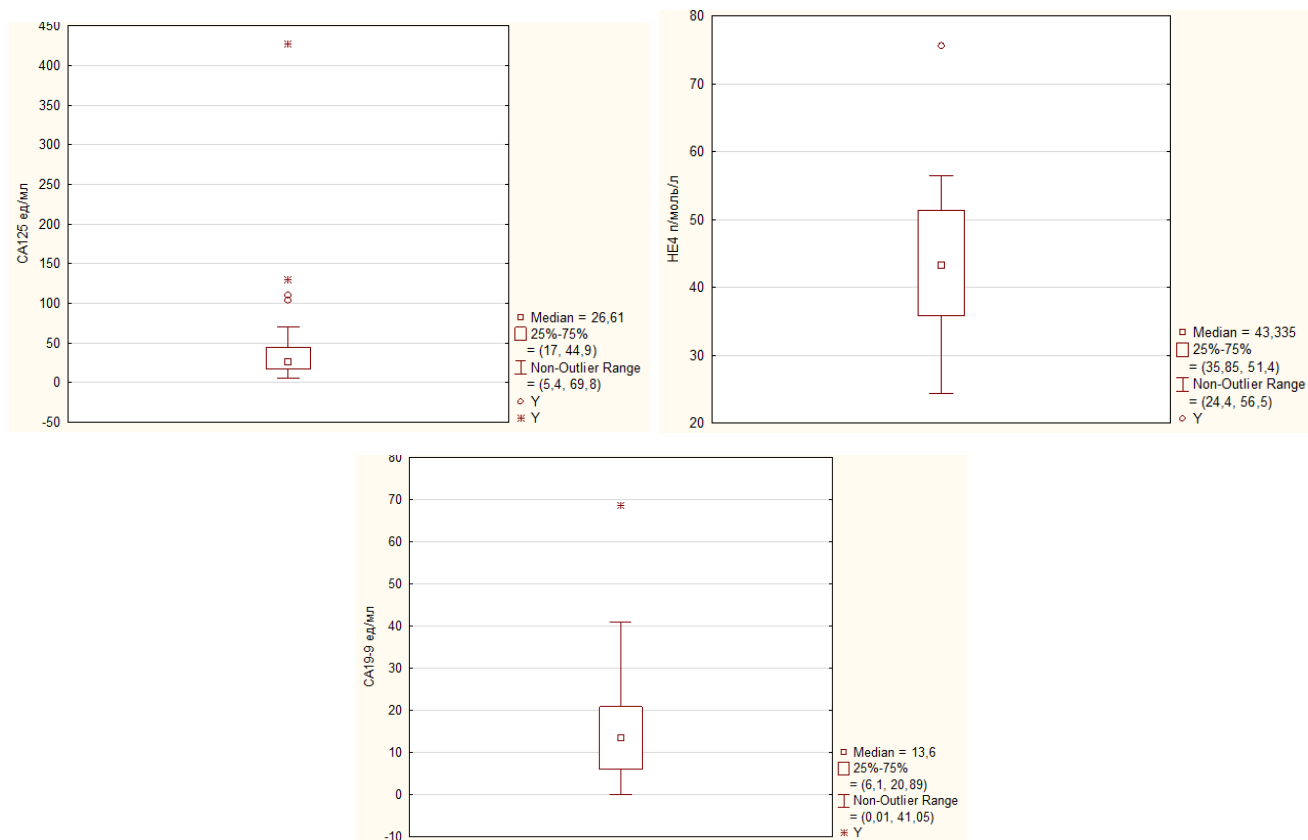


Рисунок 4.2 — Концентрации онкомаркеров сыворотки крови пациенток с эндометриоидными кистами яичников

В таблице 4.6 представлен уровень онкомаркеров в зависимости от стадии эндометриоза.

Таблица 4.6 — Уровни онкомаркеров в зависимости от стадии эндометриоза

	II стадия			III стадия			IV стадия			<i>p</i>
	Me	-95% ДИ	+95% ДИ	Me	-95% ДИ	+95% ДИ	Me	-95% ДИ	+95% ДИ	
CA-125	38,64	22,10	55,18	35,89	22,26	49,52	102,3	-65,4	270,0	0,25
HE4	46,27	26,27	66,26	38,87	30,01	47,73	46,6	-17,3	110,5	0,69
CA-19-9	11,56	1,82	21,30	16,42	8,80	24,05	17,1	2,1	32,1	0,85

Как видно из таблицы 4.6, ни по одному указанному онкомаркеру пациентки с различными стадиями эндометриоза статистически значимо не отличались (критерий Краскела-Уоллиса,  $p > 0,05$ ), но заметна тенденция к увеличению концентрации CA19-9 по мере прогрессирования стадии заболевания. Статистически значимой корреляции уровня онкомаркеров со стадией НГЭ не выявлено ( $p > 0,05$ ).

При УЗИ эндометриомы имели следующие признаки: однокамерные округлые образования с утолщенной стенкой, с однородным мелкодисперсным содержимым (взвесью) или признаком матового стекла (рисунок 4.3).

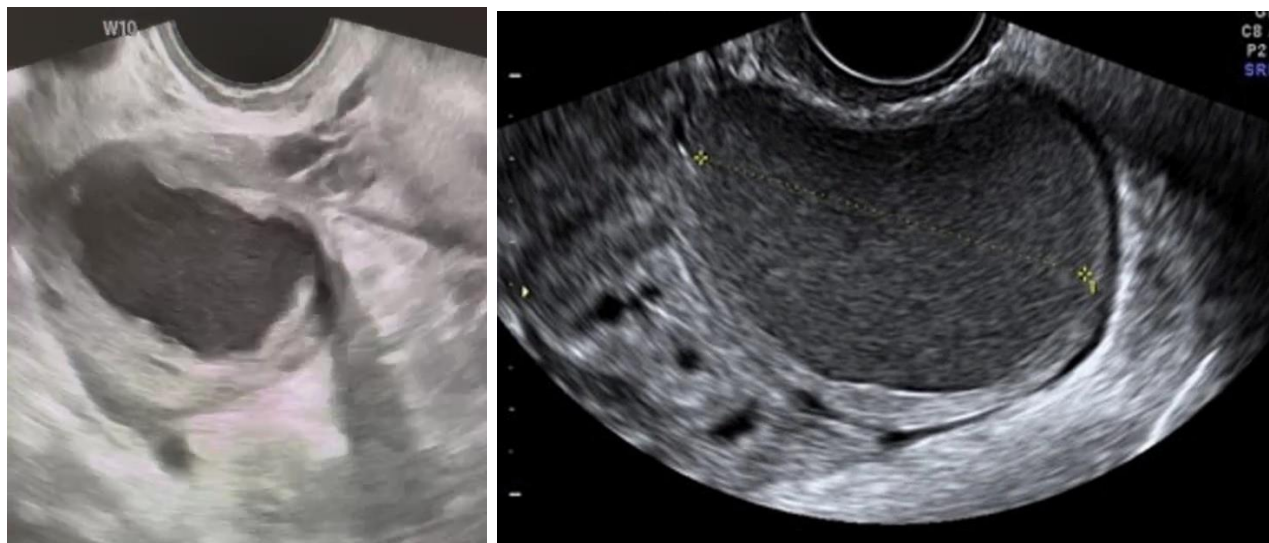


Рисунок 4.3 — Ультразвуковое исследование эндометриоидных кист яичников.

Видна утолщенная стенка кисты и взвесь в полости

В таблице 4.7 и на рисунке 4.4 представлены размеры ЭКЯ, выявленные при УЗИ.

Таблица 4.7 — Размеры эндометриоидных кист яичников по данным УЗИ

	Среднее, мм	Меди- ана, мм	Мода, мм	-95% ДИ, мм	+95% ДИ, мм	мин., мм	макс., мм	25% квар- тиль	75% квар- тиль
ЭКЯ	40,1	34,5	32,0	15,8	23,7	15	130	30,0	50,5

Как видно из таблицы и рисунка, размер ЭКЯ имел довольно большой размах: от 15 до 130 мм, но медиана (34,5 мм) позволяет судить об относительно небольших размерах ЭКЯ у большинства пациенток.

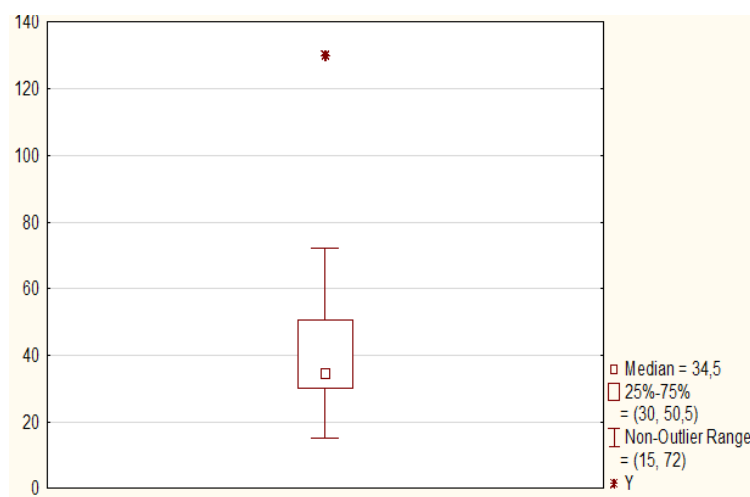


Рисунок 4.4 — Размер эндометриоидных кист, мм

Из 54 пациенток с НГЭ при помощи УЗИ у 49 диагностирована ЭКЯ, подтвердившаяся лапароскопически и гистологически, но у 1 пациентки дооперационно заподозрена тератома яичника, оказавшаяся ЭКЯ. Таким образом, чувствительность УЗИ в определении ЭКЯ составила 98%. Вместе с тем из 26 пациенток без верифицированного впоследствии эндометриоза на дооперационном этапе ЭКЯ при помощи УЗИ заподозрена у 1 пациентки, однако лапароскопия выявила гидросальпингс. Таким образом, специфичность УЗИ в определении ЭКЯ составила 96,2%.

В таблице 4.8 и на рисунке 4.5 представлена корреляция уровней измеренных онкомаркеров с размерами эндометриоидных кист.

Таблица 4.8 — Корреляция уровней онкомаркеров с размерами эндометриоидных кист

	Коэффициент корреляции Спирмена	<i>p</i>
СА-125	0,50	0,001
HE4	-0,24	0,303
СА-19-9	0,23	0,209

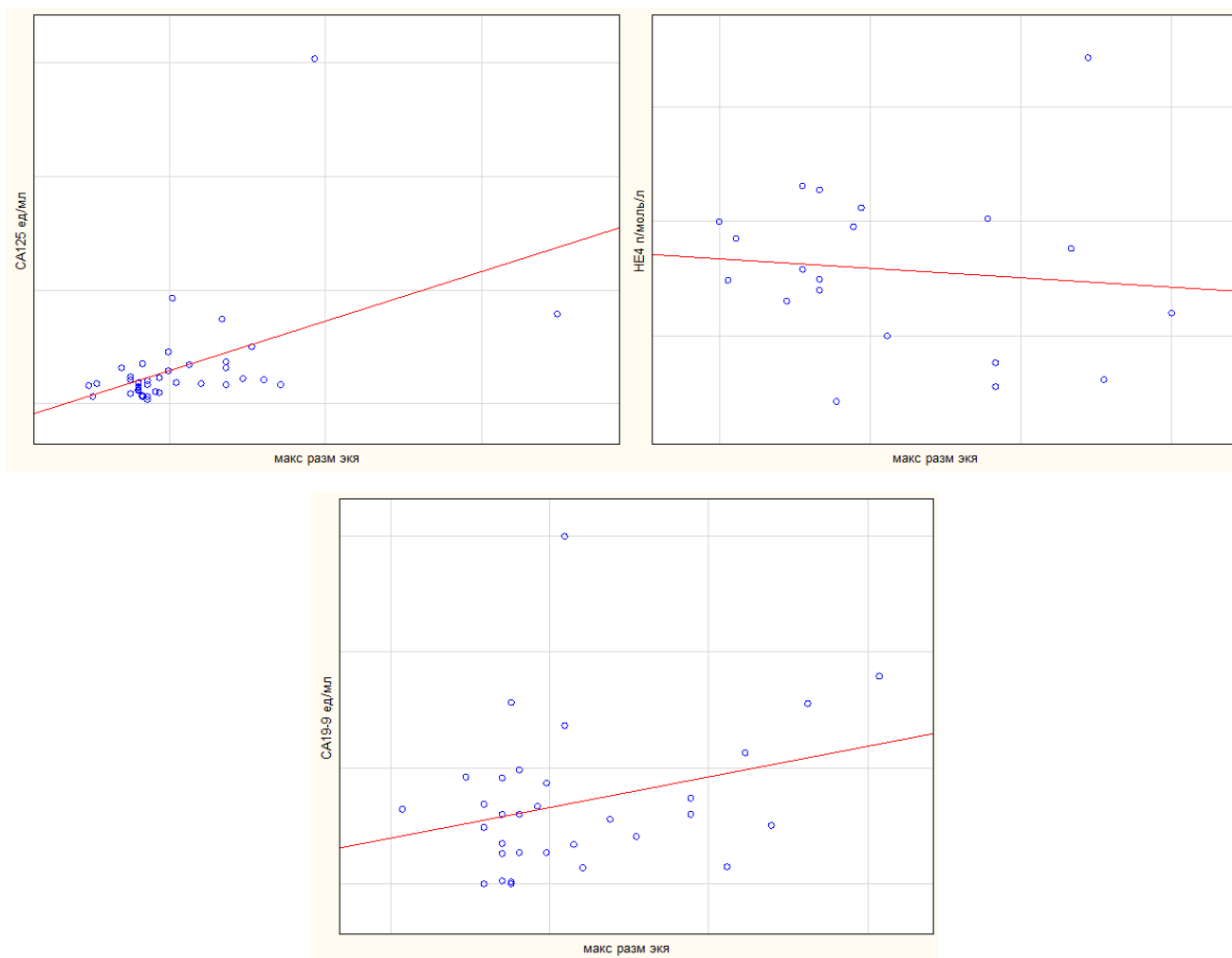
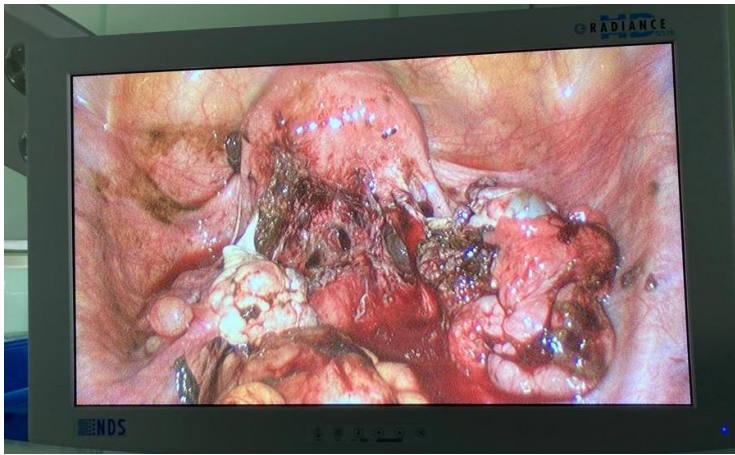


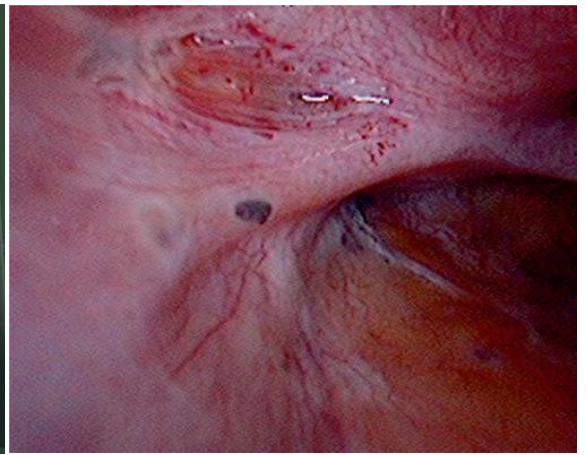
Рисунок 4.5 — Корреляция уровней онкомаркеров и размеров ЭКЯ

Выявлена статистически значимая положительная корреляция средней силы (коэффициент корреляции Спирмена 0,5,  $p=0,001$ ) между уровнем СА-125 и размером ЭКЯ.

Во время лапароскопии у пациенток с эндометриозом верифицированы ЭКЯ (50 женщин) и множественные гетеротопические очаги на брюшине, спаечный процесс различной степени выраженности (рисунок 4.6).



НГЭ IV стадии, спаечный процесс. Выполнен частичный адгезиолизис для обеспечения доступа к придаткам



Гетеротопический очаг на левой круглой связке матки. Связка утолщена (индуцированный эндометриозом фиброз?), гиперемирована



Эндометриоидная киста правого яичника



Темно-коричневое («шоколадное») содержимое ЭКЯ изливается при попытке её вылуцивания

Рисунок 4.6 — Лапароскопическая визуализация НГЭ у обследованных пациенток

Полученные в ходе лапароскопии гистологические образцы (стенки ЭКЯ, гетеротопии с брюшины) изучены при патологоанатомическом исследовании (рисунки 4.7–4.8).

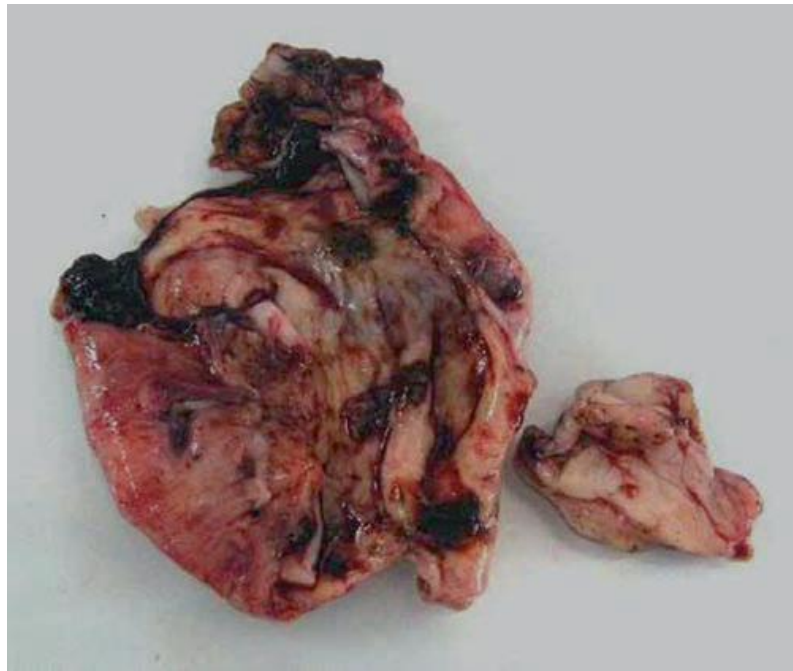
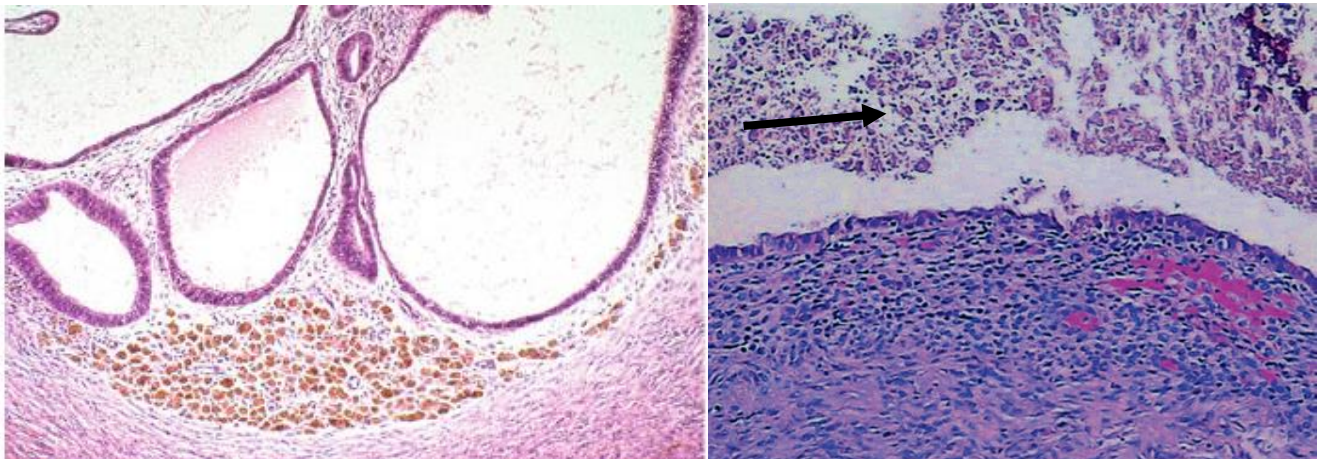


Рисунок 4.7 — Макропрепарат ЭКЯ. На разрезе видны кистозные полости, заполненные «старой» кровью. Стенка кисты утолщена



Выстилка ЭКЯ. Видны кистозно расширенные эндометриодные железы и гемосидерин-содержащие макрофаги в подлежащей строме

Стенка ЭКЯ выстлана однослойным эпителием. Под ним — типичные для эндометриоза стромальные и сосудистые изменения. В просвете — продукты распада клеток (стрелка)

Рисунок 4.8 — Гистологический микропрепарат ЭКЯ

**Резюме.** Результаты клинического анализа крови показали, что пациентки с эндометриозом и без такового статистически значимо не отличались по основным его показателям; не выявлено различий в зависимости от стадии НГЭ. Средние значения основных параметров находились в пределах референсных значений.

Однако выявлена статистически значимая слабой силы положительная корреляция концентрации тромбоцитов со стадией НГЭ (критерий Кендалла  $\tau = 0,21$ ,  $p=0,035$ ).

Анализ свертывающей системы и биохимический анализ крови выявил, что у женщин с НГЭ статистически значимо меньшее АЧТВ и в 1,75 раза меньшая концентрация общего билирубина в сыворотке крови ( $p=0,017$ ), чем у пациенток без эндометриоза. Выявлена статистически значимая положительная корреляция очень слабой силы концентрации общего билирубина (критерий Кендалла  $\tau = 0,28$ ,  $p=0,018$ ); отрицательная корреляция очень слабой силы концентрации АЛТ ( $\tau=-0,29$ ,  $p=0,010$ ) и отрицательная корреляция слабой силы концентрации мочевины ( $\tau = -0,29$ ,  $p=0,010$ ) со стадией НГЭ.

Медианы уровней трёх онкомаркеров (СА-125, НЕ4, СА-19-9), определённых у 50 пациенток с ЭКЯ, находились в пределах референсных значений, и различий в зависимости от стадии НГЭ не обнаружено. Однако заметна тенденция к увеличению концентрации СА19-9 по мере прогрессирования стадии заболевания. Выше порогового значения уровни СА-125, НЕ4, СА-19-9 оказались только у 31,2, 5,0 и 12,0% пациенток с ЭКЯ, соответственно.

Предоперационное УЗИ выявило ЭКЯ размером от 15 до 130 мм с чувствительностью 98%, специфичностью 96,2%, что подтверждает высокую диагностическую ценность УЗИ в обнаружении эндометриом. Медиана размера ЭКЯ (34,5 мм) позволяет судить об относительно небольших размерах ЭКЯ у большинства пациенток.

Корреляционным анализом обнаружена средней силы положительная связь между уровнем СА-125 и размером ЭКЯ ( $p=0,001$ ), однако достоверно судить об имеющейся зависимости невозможно, поскольку пациентки различались не только по размерам эндометриом, но и по степени распространенности перитонеальных очагов, количеству эндометриоидных кист.



## ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе молекулярно-биологического исследования анализируемые микроРНК удалось обнаружить не во всех образцах, поэтому для каждой микроРНК указано количество пациенток, у которых ее детектировали.

В таблице 5.1 и на рисунке 5.1 представлены плазменные уровни изученных микроРНК у пациенток с НГЭ и контрольной группы.

Таблица 5.1 — Уровни микроРНК у пациенток обеих групп

	Эндометриоз					Женщины без эндометриоза					$2^{-\Delta\Delta Ct}(\text{ген.}) / 2^{-\Delta\Delta Ct}(\text{контроль})$	<i>p</i>
	n	%	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ	n	%	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ		
miR-125b	54	100	0,064	0,047	0,082	26	100	0,055	0,035	0,075	1,16	0,501
miR-126	54	100	3,060	2,528	3,592	26	100	3,031	2,275	3,788	1,01	0,873
miR-16	54	100	26,869	20,310	33,427	26	100	30,222	17,961	42,484	0,89	0,809
miR-15a	54	100	2,107	1,740	2,475	26	100	2,369	1,605	3,132	0,89	0,778
miR-183	51	94,4	0,009	0,006	0,013	26	100	0,006	0,003	0,010	1,50	<b>0,017</b>
miR-200a	51	94,4	0,008	0,006	0,009	25	96,2	0,007	0,005	0,009	1,14	0,658
miR-20a	54	100	12,657	10,555	14,758	26	100	15,227	10,726	19,729	0,83	0,723
miR-21	54	100	18,275	15,470	21,079	26	100	18,423	13,928	22,917	0,99	0,971
miR-222	54	100	0,350	0,305	0,394	26	100	0,410	0,297	0,524	0,85	0,731
miR-29b	54	100	0,427	0,371	0,483	26	100	0,437	0,323	0,550	0,98	0,865

Из таблицы видно, что уровень только miR-183 у пациенток с НГЭ статистически значимо в 1,5 раза превышала таковой у пациенток контрольной группы ( $p=0,017$ ).

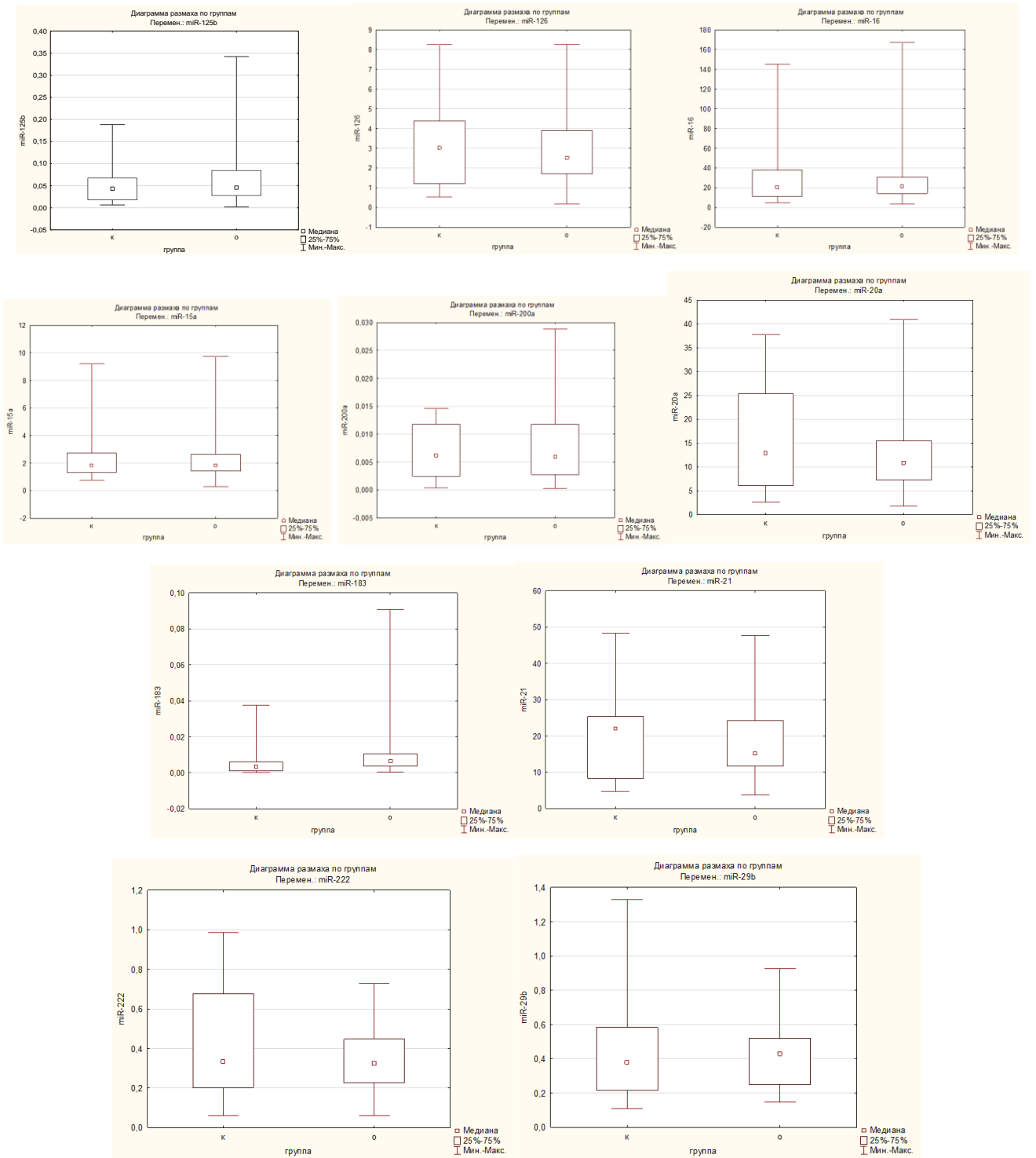


Рисунок 5.1 — Диаграммы размаха экспрессий микроРНК у обследованных

Попарное сравнение экспрессии микроРНК у пациенток с конкретной стадией НГЭ и контрольной группы представлено в Таблице 5.2.

Таблица 5.2 — Сравнение уровней микроРНК при различных стадиях НГЭ с контрольной группой

	II стадия и контроль		III стадия и контроль		IV стадия и контроль	
	$2^{-\Delta Ct}$ (осн.)/ $2^{-\Delta Ct}$ (контроль)	P	$2^{-\Delta Ct}$ (осн.)/ $2^{-\Delta Ct}$ (контроль)	P	$2^{-\Delta Ct}$ (осн.)/ $2^{-\Delta Ct}$ (контроль)	P
miR-125b	1,27	0,386	1,16	0,655	1,02	0,865
miR-126	0,86	0,358	1,11	0,550	0,96	0,559
miR-16	0,79	0,948	1,03	0,453	0,62	0,509
miR-15a	0,84	0,990	0,97	0,463	0,71	0,584
miR-183	1,33	<b>0,044</b>	1,83	<b>0,008</b>	0,83	0,985
miR-200a	1,00	0,735	1,14	0,425	0,86	0,507
miR-20a	0,77	0,806	0,91	0,926	0,70	0,485
miR-21	0,87	0,560	1,02	0,820	1,12	0,865
miR-222	0,81	0,560	0,92	0,859	0,72	0,417
miR-29b	0,97	0,990	1,05	0,527	0,73	0,417

Из таблицы 5.2 видно, что статистически значимо различался уровень только miR-183, причем только при сравнении II и III стадии НГЭ с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). К тому же уровень miR-183 при III стадии относительно контрольной группы выше, чем при II стадии: в 1,83 и 1,33 раза соответственно. Отсутствие статистической разницы в уровнях микроРНК при IV стадии может быть объяснено малым количеством пациенток (9 женщин).

В таблице 5.3 приведено сравнение уровней микроРНК у пациенток с НГЭ и пациенток контрольной группы с бесплодием.

Таблица 5.3 — Сравнение уровней микроРНК при НГЭ и бесплодии без эндометриоза

	Пациентки с эндометриозом				Пациентки контрольной группы с бесплодием				$2^{-\Delta Ct}$ (осн.)/ $2^{-\Delta Ct}$ (контроль)	P
	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ		
miR-125b	54	0,064	0,047	0,082	18	0,042	0,022	0,062	1,52	0,085
miR-126	54	3,060	2,528	3,592	18	2,771	1,780	3,762	1,10	0,563
miR-16	54	26,869	20,310	33,427	18	27,153	10,460	43,846	0,99	0,187
miR-15a	54	2,107	1,740	2,475	18	2,288	1,209	3,368	0,92	0,250
miR-183	51	0,009	0,006	0,013	18	0,005	0,001	0,010	1,80	<b>0,012</b>
miR-200a	51	0,008	0,006	0,009	18	0,006	0,003	0,008	1,33	0,271
miR-20a	54	12,657	10,555	14,758	18	11,637	6,701	16,572	1,09	0,191
miR-21	54	18,275	15,470	21,079	18	16,766	10,733	22,800	1,09	0,394
miR-222	54	0,350	0,305	0,394	18	0,324	0,208	0,441	1,08	0,333
miR-29b	54	0,427	0,371	0,483	18	0,337	0,237	0,437	1,27	0,092

Как видно из таблицы 5.3, уровень miR-183 у женщин с НГЭ статистически значимо в 1,8 раза превышала таковую у пациенток контрольной группы с бесплодием ( $p = 0,012$ ).

Одна из основных задач будущего неинвазивного теста — выявить среди пациенток с бесплодием женщин с эндометриозом. Сравнение уровней микроРНК у женщин с бесплодием обеих групп представлено в таблице 5.4.

Таблица 5.4 — Уровни микроРНК у женщин обеих групп с бесплодием

	Эндометриоз				Контроль				$2^{-\Delta\Delta Ct(\text{осн.})}/2^{-\Delta\Delta Ct(\text{кон- троль})}$	<i>p</i>
	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ		
miR-125b	13	0,076	0,022	0,129	18	0,042	0,022	0,062	1,81	0,193
miR-126	13	3,482	2,078	4,887	18	2,771	1,780	3,762	1,26	0,289
miR-16	13	23,903	16,460	31,345	18	27,153	10,460	43,846	0,88	0,271
miR-15a	13	1,927	1,531	2,323	18	2,288	1,209	3,368	0,84	0,347
miR-183	13	0,007	0,004	0,011	18	0,005	0,001	0,010	1,40	0,075
miR-200a	12	0,007	0,004	0,010	18	0,006	0,003	0,008	1,17	0,300
miR-20a	13	14,435	10,482	18,387	18	11,637	6,701	16,572	1,24	0,097
miR-21	13	20,136	13,041	27,232	18	16,766	10,733	22,800	1,20	0,347
miR-222	13	0,381	0,269	0,494	18	0,324	0,208	0,441	1,18	0,347
miR-29b	13	0,466	0,326	0,606	18	0,337	0,237	0,437	1,38	0,155

Как видно из таблицы 5.5, статистически значимых различий в уровнях микроРНК среди пациенток с бесплодием нет ( $p > 0,05$ ).

Сравнение уровней микроРНК у женщин обеих групп без бесплодия представлено в таблице 5.5.

Таблица 5.5 — Уровни микроРНК у женщин без бесплодия обеих групп

	Эндометриоз				Контроль				$2^{-\Delta\Delta Ct(\text{контроль})}/2^{-\Delta\Delta Ct(\text{осн.})}$	<i>p</i>
	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ		
miR-125b	41	0,061	0,044	0,078	8	0,084	0,037	0,132	1,38	0,148
miR-126	41	2,926	2,349	3,503	8	3,617	2,342	4,892	1,24	0,164
miR-16	41	27,809	19,364	36,253	8	37,129	18,888	55,370	1,34	0,140
miR-15a	41	2,164	1,690	2,639	8	2,549	1,613	3,485	1,18	0,239
miR-183	38	0,010	0,005	0,014	8	0,008	-0,001	0,018	0,80	0,393
miR-200a	39	0,008	0,006	0,010	7	0,009	0,004	0,014	1,13	0,328
miR-20a	41	12,093	9,561	14,625	8	23,306	15,088	31,524	1,93	<b>0,004</b>
miR-21	41	17,684	14,575	20,794	8	22,149	15,575	28,724	1,25	0,096
miR-222	41	0,340	0,291	0,389	8	0,603	0,356	0,851	1,77	<b>0,022</b>
miR-29b	41	0,415	0,352	0,477	8	0,661	0,396	0,926	1,59	<b>0,014</b>

У женщин без бесплодия и НГЭ статистически значимо в 1,93; 1,77 и 1,59 раза выше уровни miR-20a, miR-222 и miR-29b, соответственно ( $p < 0,05$ ).

При помощи непараметрического критерия Краскела-Уоллиса мы сравнили уровни микроРНК у пациенток с тремя разными стадиями НГЭ (II–IV) (таблица 5.6).

Таблица 5.6 — Уровни микроРНК в зависимости от стадии НГЭ

	Стадия эндометриоза												<i>p</i>
	II				III				IV				
	n	mean 2 <sup>-ΔCt</sup>	-95% ДИ	95% ДИ	n	mean 2 <sup>-ΔCt</sup>	-95% ДИ	95% ДИ	n	mean 2 <sup>-ΔCt</sup>	-95% ДИ	95% ДИ	
miR-125b	16	0,070	0,029	0,112	29	0,064	0,041	0,087	9	0,056	0,018	0,094	0,800
miR-126	16	2,606	1,773	3,439	29	3,355	2,564	4,147	9	2,915	1,244	4,587	0,425
miR-16	16	23,886	15,756	32,016	29	31,075	19,679	42,472	9	18,615	11,381	25,849	0,561
miR-15a	16	1,991	1,522	2,460	29	2,301	1,675	2,926	9	1,691	1,028	2,354	0,654
miR-183	15	0,008	0,005	0,010	27	0,011	0,005	0,018	9	0,005	0,002	0,008	0,053
miR-200a	13	0,007	0,004	0,010	29	0,008	0,006	0,011	9	0,006	0,001	0,012	0,521
miR-20a	16	11,686	8,217	15,156	29	13,792	10,541	17,043	9	10,722	5,469	15,976	0,801
miR-21	16	16,052	11,151	20,953	29	18,753	15,167	22,340	9	20,684	9,479	31,888	0,842
miR-222	16	0,332	0,243	0,420	29	0,376	0,314	0,439	9	0,297	0,181	0,412	0,605
miR-29b	16	0,426	0,307	0,546	29	0,461	0,383	0,538	9	0,320	0,203	0,436	0,318

Как видно из таблицы 5.6, уровни изученных микроРНК статистически не различались между пациентками с различными стадиями НГЭ ( $p>0,05$ ).

В таблице 5.7 представлены уровни микроРНК в зависимости от наличия или отсутствия ЭКЯ.

Таблица 5.7 — Уровень микроРНК в зависимости от наличия эндометриоидных кист

	Эндометриоз с ЭКЯ				Эндометриоз без ЭКЯ				соотношение экспрессии	<i>p</i>
	n	mean 2 <sup>-ΔCt</sup>	-95% ДИ	+95% ДИ	n	mean 2 <sup>-ΔCt</sup>	-95% ДИ	+95% ДИ		
miR-125b	50	0,068	0,050	0,086	4	0,021	0,006	0,036	3,24	<b>0,028</b>
miR-126	50	3,195	2,638	3,753	4	1,366	0,555	2,177	2,34	<b>0,028</b>
miR-16	50	27,409	20,341	34,476	4	20,117	10,797	29,437	1,36	0,5633
miR-15a	50	2,130	1,735	2,526	4	1,817	0,875	2,759	1,17	0,7287
miR-183	47	0,009	0,006	0,013	4	0,006	0,000	0,011	1,50	0,5398
miR-200a	47	0,008	0,006	0,010	4	0,004	0,002	0,005	2,00	0,1664
miR-20a	50	12,990	10,747	15,234	4	8,484	5,208	11,760	1,53	0,2685
miR-21	50	18,997	16,072	21,922	4	9,248	2,468	16,027	2,05	<b>0,033</b>
miR-222	50	0,362	0,315	0,408	4	0,200	0,161	0,238	1,81	<b>0,026</b>
miR-29b	50	0,432	0,374	0,491	4	0,360	0,050	0,670	1,20	0,6320

Уровни miR-125b, miR-126, miR-21 и miR-222 была статистически значимо выше у женщин с ЭКЯ ( $p<0,05$ ), но стоит учесть не соразмерное количество пациенток с ЭКЯ и без них.

В таблице 5.8 представлены уровни микроРНК в зависимости от наличия или отсутствия спаечного процесса в малом тазу у пациенток обеих групп.

Таблица 5.8 — Уровни микроРНК в зависимости от наличия спаечного процесса в малом тазу

	Спаечный процесс есть				Спаечного процесса нет				соотношение экспрессии	<i>p</i>
	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ		
miR-125b	64	0,066	0,050	0,082	16	0,042	0,023	0,061	1,57	0,080
miR-126	64	3,177	2,714	3,641	16	2,544	1,415	3,673	1,25	0,144
miR-16	64	28,907	21,895	35,920	16	24,163	15,574	32,752	1,20	0,652
miR-15a	64	2,228	1,820	2,635	16	2,050	1,456	2,644	1,09	0,759
miR-183	61	0,008	0,005	0,011	16	0,008	0,004	0,012	1,00	0,865
miR-200a	62	0,008	0,007	0,009	14	0,004	0,002	0,006	2,00	<b>0,013</b>
miR-20a	64	13,925	11,619	16,230	16	11,761	7,552	15,970	1,18	0,482
miR-21	64	19,310	16,654	21,965	16	14,375	9,492	19,258	1,34	0,087
miR-222	64	0,360	0,314	0,406	16	0,407	0,250	0,564	0,88	0,995
miR-29b	64	0,438	0,387	0,490	16	0,398	0,231	0,565	1,10	0,151

Статистически значимо выше (в 2,0 раза) был уровень miR-200a у пациенток со спаечным процессом в малом тазу ( $p=0,013$ ).

В таблице 5.9 представлены уровни микроРНК в зависимости от наличия или отсутствия спаечного процесса в малом тазу у пациенток с НГЭ.

Таблица 5.9 — Уровни микроРНК у пациенток с НГЭ в зависимости от наличия спаечного процесса в малом тазу

	Спаечный процесс есть				Спаечного процесса нет				Соотношение экспрессии	<i>p</i>
	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ	n	mean $2^{-\Delta Ct}$	-95% ДИ	+95% ДИ		
miR-125b	46	0,066	0,047	0,086	8	0,054	0,016	0,091	1,22	0,503
miR-126	46	3,144	2,588	3,700	8	2,575	0,538	4,612	1,22	0,193
miR-16	46	27,774	20,154	35,394	8	21,660	13,197	30,123	1,28	0,688
miR-15a	46	2,167	1,747	2,588	8	1,762	1,074	2,450	1,23	0,312
miR-183	43	0,009	0,004	0,013	8	0,012	0,006	0,018	0,75	0,057
miR-200a	44	0,008	0,006	0,010	7	0,004	0,003	0,005	2,00	0,087
miR-20a	46	13,024	10,600	15,448	8	10,542	7,366	13,718	1,24	0,584
miR-21	46	19,238	16,097	22,379	8	12,737	7,506	17,968	1,51	0,082
miR-222	46	0,347	0,298	0,396	8	0,367	0,228	0,506	0,95	0,779
miR-29b	46	0,439	0,378	0,500	8	0,360	0,191	0,529	1,22	0,210

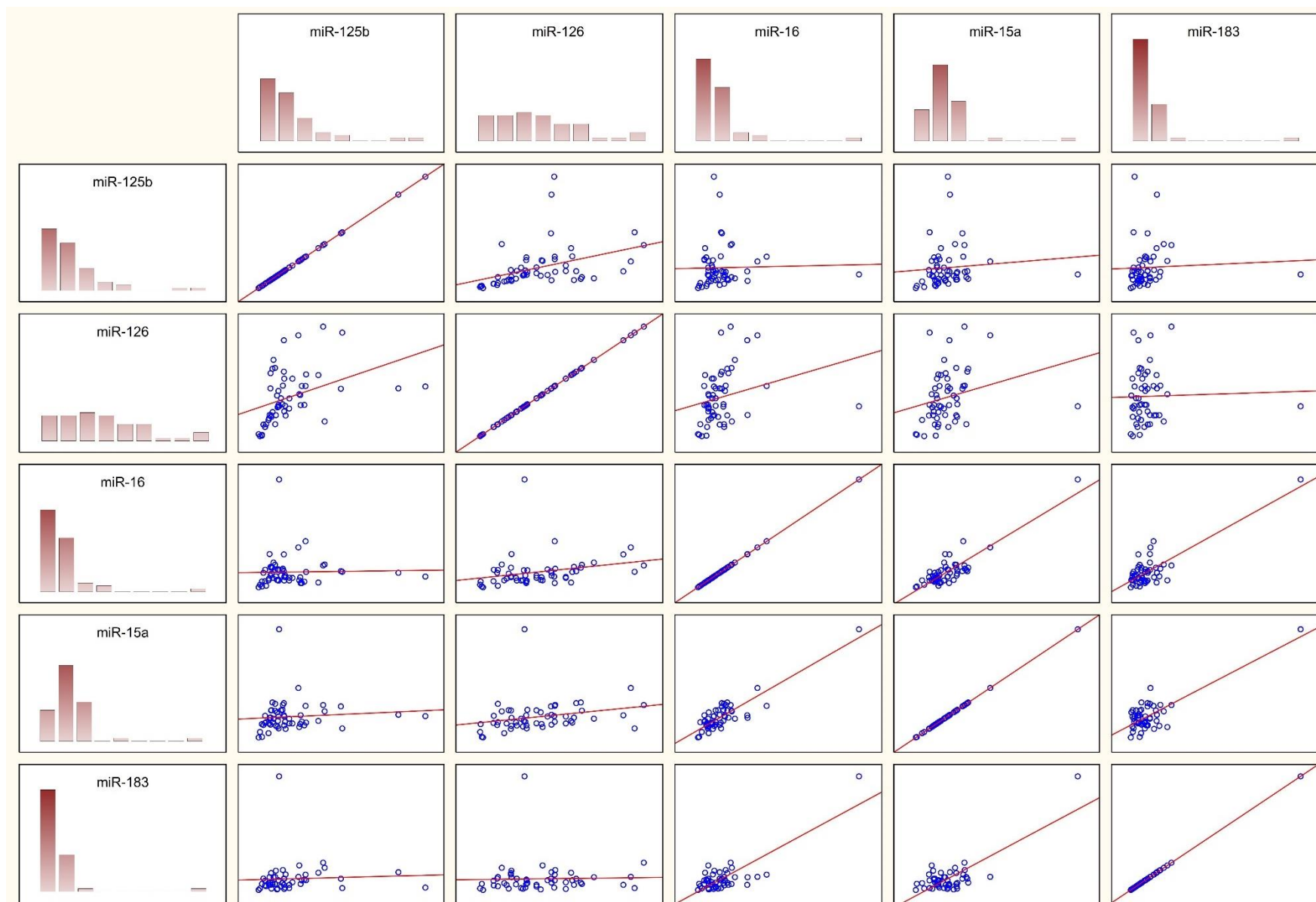
Уровни изученных микроРНК у пациенток с НГЭ в зависимости от наличия спаечного процесса статистически не отличались ( $p>0,05$ ).

В таблице 5.10 и на рисунке 5.2 представлены результаты попарного корреляционного анализа уровней 10 изученных микроРНК у пациенток с НГЭ.

Таблица 5.10 — Корреляционный анализ уровней микроРНК у пациенток с НГЭ

Пары микроРНК	Кол-во пациенток	Критерий Спирмена	<i>p</i>
miR-20a & miR-16	54	0,788	0,000
miR-21 & miR-126	54	0,782	0,000
miR-21 & miR-20a	54	0,726	0,000
miR-16 & miR-15a	54	0,690	0,000
miR-222 & miR-126	54	0,685	0,000
miR-29b & miR-20a	54	0,655	0,000
miR-126 & miR-29b	54	0,638	0,000
miR-222 & miR-20a	54	0,638	0,000
miR-20a & miR-126	54	0,632	0,000
miR-222 & miR-21	54	0,600	0,000
miR-126 & miR-125b	54	0,594	0,000
miR-29b & miR-21	54	0,580	0,000
miR-125b & miR-21	54	0,539	0,000
miR-126 & miR-200a	51	0,507	0,000
miR-15a & miR-20a	54	0,490	0,000
miR-200a & miR-125b	51	0,488	0,000
miR-222 & miR-29b	54	0,487	0,000
miR-16 & miR-29b	54	0,486	0,000
miR-222 & miR-200a	51	0,470	0,001
miR-125b & miR-222	54	0,462	0,000
miR-21 & miR-16	54	0,462	0,000
miR-126 & miR-16	54	0,443	0,001
miR-15a & miR-21	54	0,436	0,001
miR-222 & miR-183	51	0,429	0,002
miR-16 & miR-222	54	0,423	0,001
miR-126 & miR-15a	54	0,413	0,002
miR-183 & miR-16	51	0,403	0,003
miR-125b & miR-20a	54	0,395	0,003
miR-125b & miR-29b	54	0,389	0,004
miR-183 & miR-20a	51	0,385	0,005
miR-200a & miR-21	51	0,381	0,006
miR-15a & miR-29b	54	0,356	0,008
miR-200a & miR-20a	51	0,339	0,015
miR-125b & miR-183	51	0,311	0,026
miR-200a & miR-29b	51	0,299	0,033
miR-15a & miR-183	51	0,270	0,056
miR-125b & miR-15a	54	0,256	0,061
miR-183 & miR-29b	51	0,250	0,077
miR-15a & miR-222	54	0,249	0,070
miR-15a & miR-200a	51	0,230	0,104
miR-16 & miR-200a	51	0,187	0,188
miR-183 & miR-21	51	0,169	0,237
miR-126 & miR-183	51	0,154	0,281
miR-125b & miR-16	54	0,151	0,277
miR-183 & miR-200a	49	-0,015	0,919

Как видно из таблицы, для большинства пар микроРНК выявлена статистически значимая положительная корреляция: для miR-21 и miR-126, miR-20a и miR-16 — высокой силы, для остальных — слабой и средней силы.





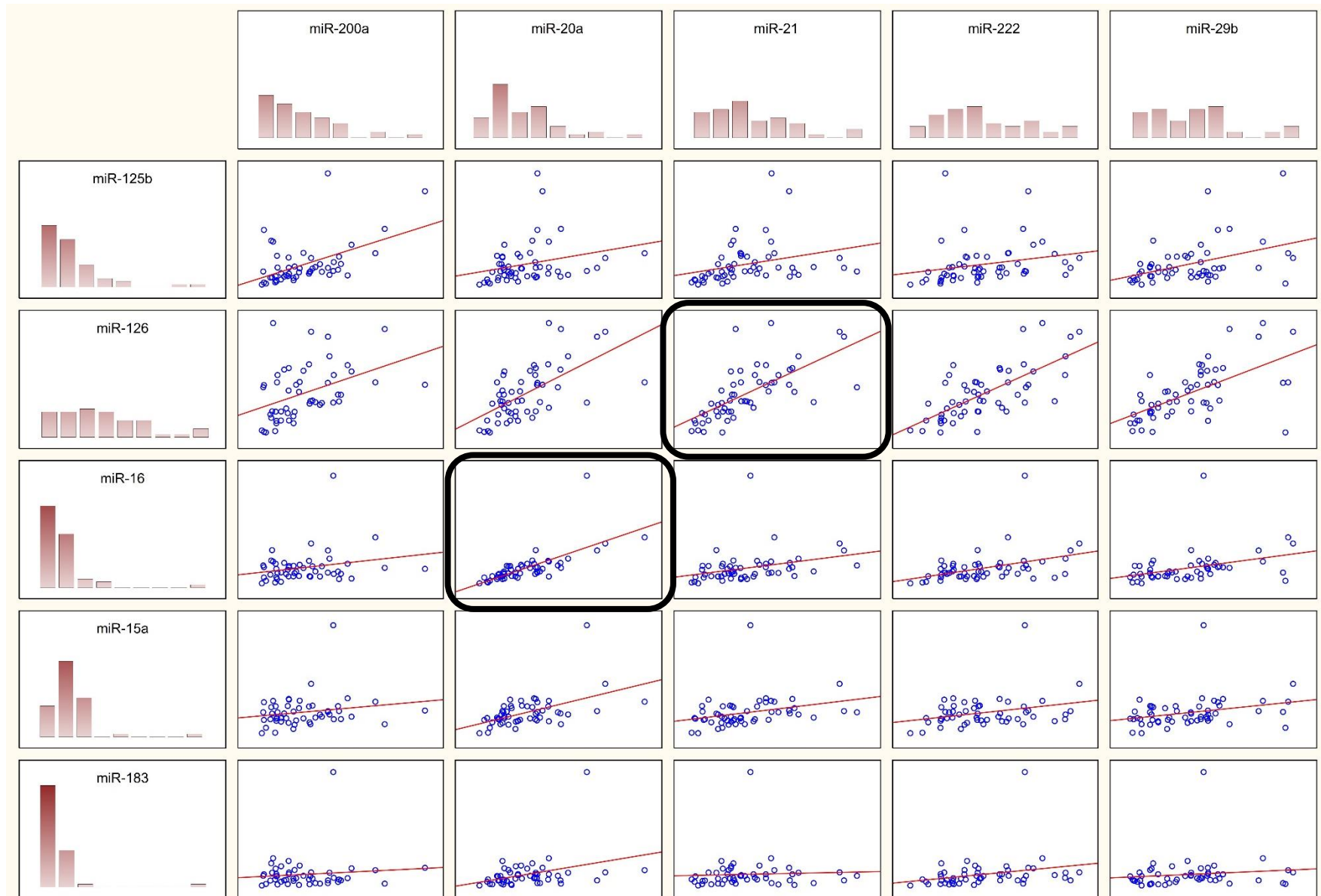


Рисунок 5.2 — Корреляция уровней микроРНК при НГЭ. Рамкой обведена корреляция наиболее высокой силы

**Резюме.** Пациенток с эндометриозом, в отличие от женщин без него, отличал статистически значимо более высокий уровень miR-183, что даёт надежду на ее использование в качестве молекулярно-биологического маркера эндометриоза. Дополнительно обнаружено, что уровень данной микроРНК при III стадии НГЭ относительно группы женщин без эндометриоза выше, чем при II стадии.

Не выявлено статистической разницы в уровнях микроРНК при сравнении трёх стадий НГЭ: вероятно, уровни изученных микроРНК не зависят от «стажа» эндометриоза, и следовательно, данные микроРНК не позволяют неинвазивно дифференцировать его стадию, или на результаты повлияло неоднородное распределение участниц исследования по стадиям НГЭ и отсутствие женщин с I стадией.

Уровень miR-183 у женщин с НГЭ в 1,5 раза статистически значимо превышал таковой у пациенток контрольной группы с бесплодием, но у пациенток с бесплодием обеих групп статистически значимых различий уровней микроРНК не выявлено.

В то же время пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в сравнении с женщинами, страдающими бесплодием иного генеза, отличал статистически значимо сниженный уровень miR-20a, miR-222 и miR-29b.

Пациенток с ЭКЯ, в отличие от женщин без кист, отличал статистически значимо более высокий уровень miR-125b, miR-126, miR-21 и miR-222, однако во внимание следует принять малое количество женщин, вошедших в исследование, без ЭКЯ.

Пациенток со спаечным процессом в малом тазу в сравнении с женщинами без него отличал статистически значимо более высокий уровень miR-200a. Однако уровни изученных микроРНК у пациенток с НГЭ в зависимости от наличия или отсутствия спаечного процесса в малом тазу не отличались.

Таким образом, выявлена статистически значимая разница в уровнях изученных микроРНК в зависимости от наличия НГЭ; ассоциированного с ним нарушения фертильности; спаечного процесса в малом тазу.

Выявленная высокой (для miR-21 и miR-126, miR-20a и miR-16) и слабой/средней силы статистически значимая положительная попарная корреляция уровней большинства изученных микроРНК у пациенток с НГЭ может свидетельствовать об общности их участия в патогенезе эндометриоза.

## ГЛАВА 6. АЛГОРИТМ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

Поскольку АЧТВ статистически значимо отличалось между пациентками двух групп, при помощи ROC-анализа мы определили его диагностическую ценность в выявлении НГЭ (Рисунок 6.1).

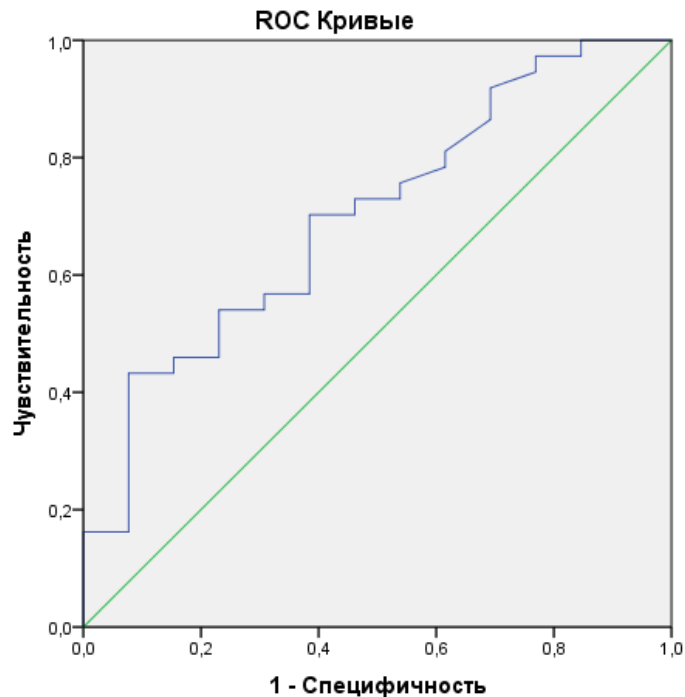


Рисунок 6.1 — ROC-кривая классификации женщин с НГЭ на основе АЧТВ. AUC=0,701, 95% ДИ [0,539; 0,862]

При помощи критерия Юдена выбрана точка отсечения значения АЧТВ = 31,6 с. При этом значении чувствительность метода 70%, специфичность — 62%, диагностическая точность — 62%. То есть при АЧТВ  $\leq$  31,6 с с диагностической точностью 62% есть НГЭ.

Поскольку концентрация билирубина статистически значимо отличалась между пациентками двух групп, при помощи ROC-анализа мы определили её диагностическую ценность в выявлении НГЭ (Рисунок 6.2).

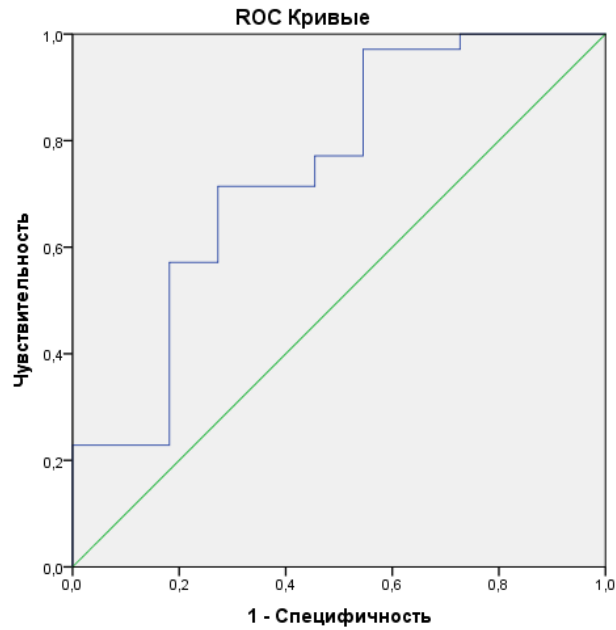


Рисунок 6.2 — ROC-кривая классификации женщин с НГЭ на основе концентрации билирубина. AUC=0,743, 95% ДИ [0,562; 0,924]

При помощи критерия Юдена выбрана точка отсечения концентрации билирубина = 11,1 мкмоль/л. При этом значении чувствительность метода 71%, специфичность — 73%, диагностическая точность — 61%. То есть при значении билирубина  $\leq 11,1$  мкмоль/л с диагностической точностью 61% есть НГЭ.

Методом бинарной логистической регрессии получено уравнение, рассчитывающее вероятность НГЭ на основе АЧТВ и концентрации билирубина:

$$P = 1 - \frac{1}{1+e^{-y}}, \text{ где}$$

$P$  — вероятность НГЭ,  $e$  — число Эйлера, равное 2,718,  $y = -16,682 + 0,251 * X_1 + 0,4 * X_2$ , где  $X_1$  — концентрация билирубина общего,  $X_2$  — АЧТВ, -16,682 — постоянный коэффициент.

Регрессор	Коэффициент регрессии	Стандартная ошибка	Статистика критерия Вальда $\chi^2$	P	Отношение шансов; 95% ДИ
$X_1$ Билирубин	0,251	0,0975	6,642	0,010	1,286 [1,062–1;557]
$X_2$ АЧТВ	0,400	0,1635	5,972	0,015	1,491 [1,082–2.055]

Уровни значимости входящих в уравнение регрессоров меньше 0,05, поэтому их включение оправдано.

Процент конкордантности составил 80,95%. Доля верно классифицированных пациенток без НГЭ составила 45,45%, с НГЭ — 93,55%.

На рисунке 6.3 представлен график ROC-анализа полученного уравнения. Площадь под кривой — 0,88.

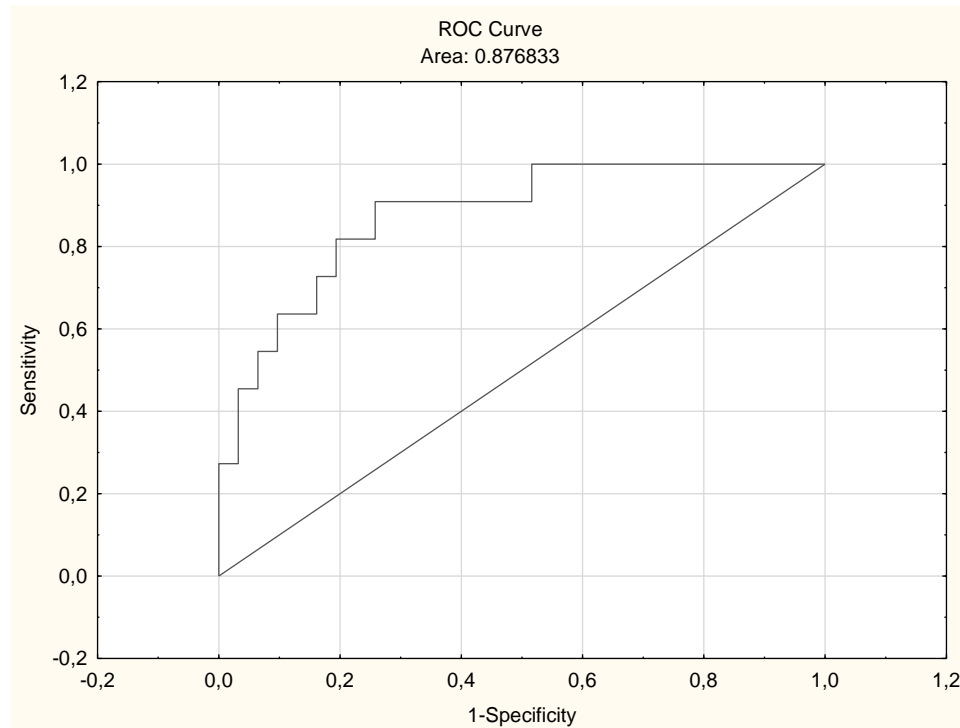


Рисунок 6.3 — График ROC-анализа уравнения логит-регрессии с регрессорами «АЧТВ, билирубин общий»

**Пример использования модели.** У пациентки с подозрением на НГЭ АЧТВ составило 31 с, концентрация общего билирубина — 14,5 мкмоль/л. Подставим полученные значения в уравнение. Тогда вероятность НГЭ равна  $1 - 1 / (1 + 2,718^{-16,682 + 0,251 * 14,5 + 0,4 * 31}) = 0,66$ .

Учитывая статистически значимо чаще встречающийся в анамнезе пациенток с НГЭ гастрит, предпринята попытка методом бинарной логистической регрессии получить уравнение, рассчитывающее вероятность НГЭ на основе АЧТВ, концентрации билирубина и наличия гастрита в анамнезе:

$$P = 1 - \frac{1}{1 + e^{-y}}, \text{ где}$$

$P$  — вероятность НГЭ,  $e$  — число Эйлера, равное 2,718,  
 $y = -16,97 + 0,251 * X_1 + 0,408 * X_2 + 0,273 * X_3$ , где  $X_1$  — концентрация билирубина,  
 $X_2$  — АЧТВ,  $X_3$  — наличие гастрита в анамнезе, -16,97 — постоянный коэффициент.

	Коэффициент регрессии $\beta$	Стандартная ошибка	Статистика критерия Вальда $\chi^2$	P	Отношение шансов; 95% ДИ
$X_1$ Билирубин	0,251	0,099	6,381	0,012	1,285 [1.058–1.56]
$X_2$ АЧТВ	0,408	0,169	5,842	0,016	1,503 [1.080–2.09]
$X_3$ гастрит	0,273	0,472	0,334	0,563	1,727 [0,271–10,99]

Как видно из таблицы, уровень значимости регрессора «гастрит» выше 0,05, поэтому включение его в уравнение необоснованно.

Поскольку среди 10 изученных микроРНК только уровни miR-183 статистически значимо различались между пациентками двух групп, при помощи ROC-анализа мы определили её диагностическую ценность в выявлении НГЭ (Рисунок 6.4).

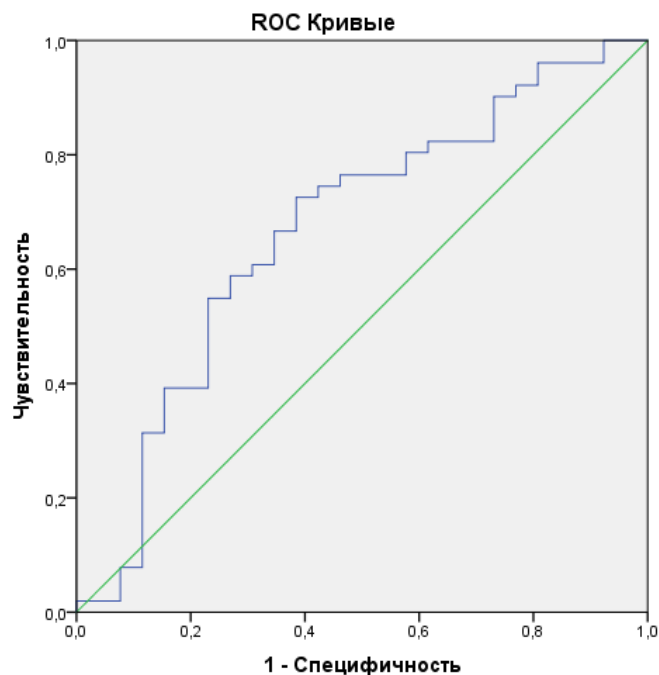


Рисунок 6.4 — ROC-кривая классификации женщин с НГЭ на основе уровня miR-183. AUC=0,668, 95% ДИ [0,535; 0,801]

При помощи критерия Юдена выбрана точка отсечения значения экспрессии miR-183:  $2^{-\Delta Ct} = 0,0042$ . При этом значении чувствительность метода 73%, специфичность — 62%, диагностическая точность — 69%.

Предпринята попытка методом бинарной логистической регрессии получить уравнение, рассчитывающее вероятность НГЭ на основе АЧТВ, концентрации билирубина и плазменного уровня miR-183:

$$P = 1 - \frac{1}{1+e^{-y}}, \text{ где}$$

$P$  — вероятность НГЭ,  $e$  — число Эйлера, равное 2,718,  $y = -16+0,253*X_1+0,391*X_2-14,33*X_3$ , где  $X_1$  — концентрация билирубина,  $X_2$  — АЧТВ,  $X_3$  — показатель уровня miR-183, -16 — постоянный коэффициент.

	Коэффициент регрессии $\beta$	Стандартная ошибка	Статистика критерия Вальда $\chi^2$	P	Отношение шансов; 95% ДИ
$X_1$ Билирубин	0,253	0,098	6,691	0,010	1,287 [1.063–1.569]
$X_2$ АЧТВ	0,391	0,165	5,606	0,018	1,479 [1.070–2.045]
$X_3$ miR-183	-14,330	83,452	0,029	0,864	0,0

Как видно из таблицы, уровень значимости регрессора «miR-183» выше 0,05, поэтому включение его в уравнение необоснованно.

Поскольку уровни miR-20a, miR-222 и miR-29b статистически значимо отличались между пациентками без бесплодия из двух групп, при помощи ROC-анализа мы определили их диагностическую ценность в выявлении НГЭ среди женщин без бесплодия (Рисунок 6.5).

При помощи критерия Юдена выбраны точки отсечения значений экспрессии указанных микроРНК и рассчитаны соответствующие значения чувствительности, специфичности и диагностической точности в выявлении женщин с НГЭ среди пациенток без бесплодия (Таблица 6.1).

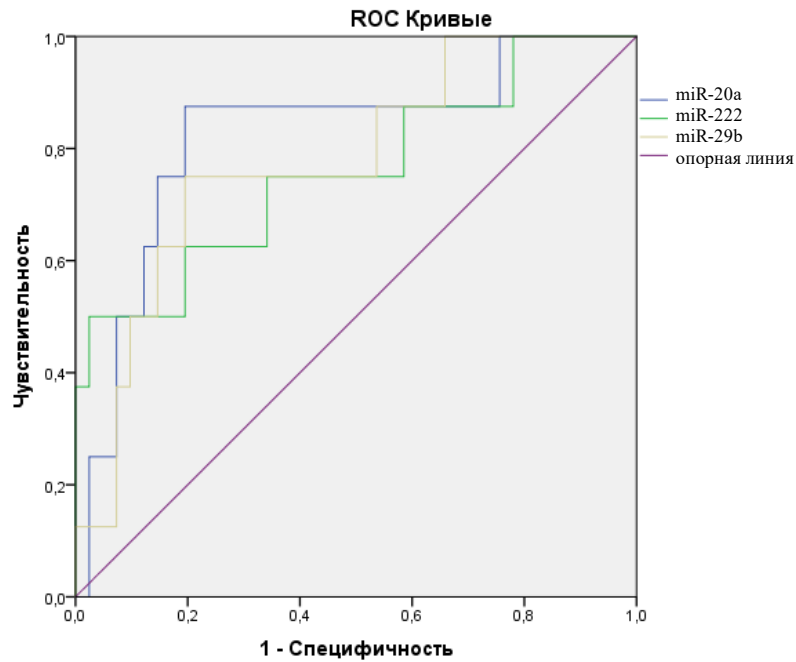


Рисунок 6.5 — ROC-кривые классификации женщин с НГЭ среди пациенток без бесплодия на основе уровней miR-20a, miR-222 и miR-29b

Таблица 6.1 — Диагностическая ценность микроРНК в диагностике НГЭ у женщин без бесплодия

	AUC	-95% ДИ	+95% ДИ	Точка отсечения $2^{-\Delta Ct}$	Чувствительность, %	Специфичность, %	Диагностическая точность, %
miR-20a	0,823	0,651	0,995	16,06	88	80	82
miR-222	0,759	0,553	0,965	0,68	50	98	90
miR-29b	0,777	0,603	0,952	0,53	75	80	78

Из таблицы видно, что наилучший диагностический потенциал из трех представленных у miR-20a: большая площадь под кривой и чувствительность.

Предпринята попытка методом бинарной логистической регрессии получить уравнение, рассчитывающее вероятность НГЭ среди пациенток без бесплодия на основе плазменных уровней miR-20a, miR-222 и miR-29b:

$$P = 1 - \frac{1}{1 + e^{-y}}, \text{ где}$$

$P$  — вероятность НГЭ,  $e$  — число Эйлера, равное 2,718,  
 $y = -4,712 + 0,089 * X_1 + 4,620 * X_2 - 1,121 * X_3$ , где  $X_1$  — уровень miR-20a,  $X_2$  — уровень miR-222,  $X_3$  — уровень miR-29b, -4,712 — постоянный коэффициент.



	Коэффициент регрессии $\beta$	Стандартная ошибка	Статистика критерия Вальда $\chi^2$	P	Отношение шансов; 95% ДИ
$X_1$ miR-20a	0,089	0,074	1,420	0,233	1.093 [0.944–1.264]
$X_2$ miR-222	4,620	2,911	2,519	0,112	101.454 [0.338–30460.708]
$X_3$ miR-29b	-1,121	3,525	0,101	0,751	0,326 [0,000–326,696]

Как видно из таблицы, уровень значимости регрессоров выше 0,05, поэтому включение их в уравнение необоснованно. Но учитывая значение коэффициента регрессии для miR-222, предпринята попытка методом бинарной логистической регрессии получить уравнение, рассчитывающее вероятность НГЭ среди пациенток без бесплодия на основе данной микроРНК:

$$P = 1 - \frac{1}{1+e^{-y}}, \text{ где}$$

$P$  — вероятность НГЭ,  $e$  — число Эйлера, равное 2,718,  $y = -4,312 + 5.928 * X_1$ , где  $X_1$  — уровень miR-222, -4.312 — постоянный коэффициент.

	Коэффициент регрессии $\beta$	Стандартная ошибка	Статистика критерия Вальда $\chi^2$	P	Отношение шансов; 95% ДИ
$X_1$ miR-222	5,928	2,177	7,415	0,006	7.415 [1.661–10.194]

Уровень значимости входящего в уравнение регрессора меньше 0,05, поэтому его включение оправдано.

Процент конкордантности составил 87,5%. Доля верно классифицированных пациенток без НГЭ составила 37,5%, с НГЭ — 97,5%.

На рисунке 6.6 представлен график ROC-анализа полученного уравнения. Площадь под кривой — 0,75.

Поскольку уровень miR-200a статистически значимо отличалась у пациенток обеих групп в зависимости от наличия спаечного процесса в брюшной полости, при помощи ROC-анализа мы определили её диагностическую ценность (Рисунок 6.7).

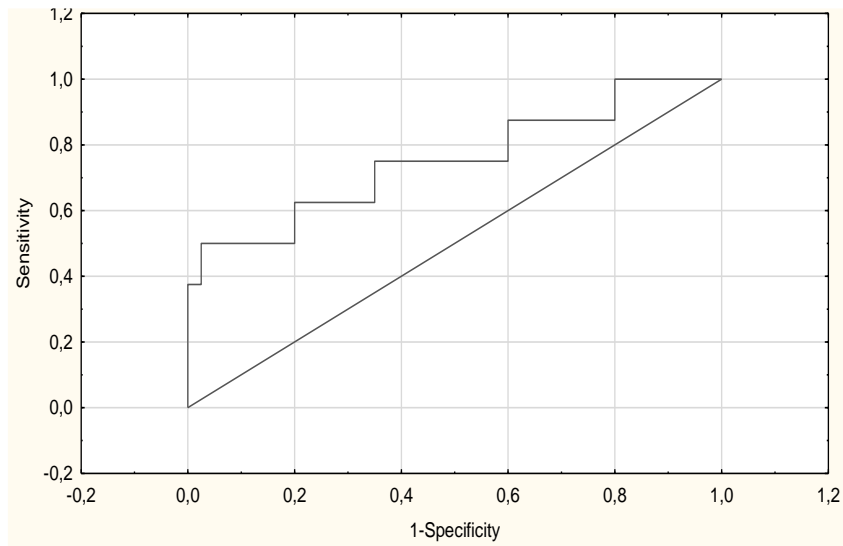


Рисунок 6.6 — График ROC-анализа уравнения логит-регрессии с регрессором «miR-222»

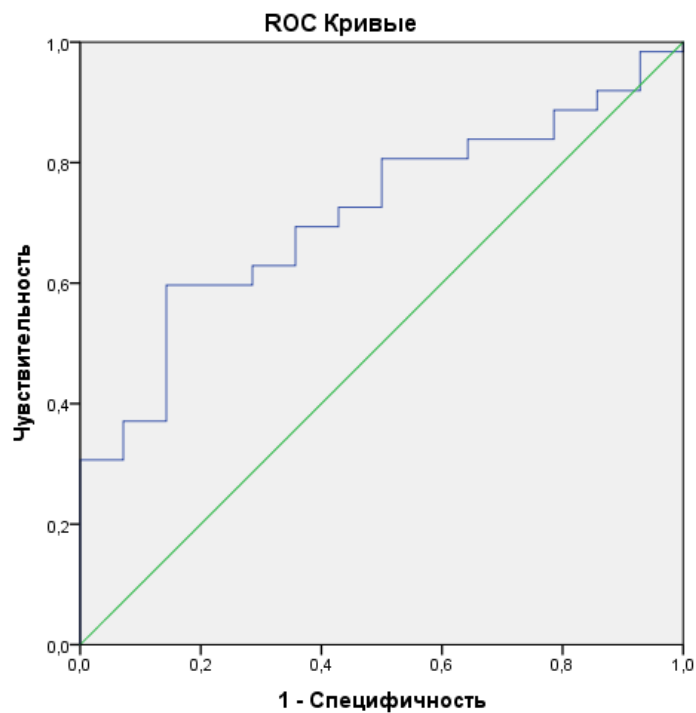


Рисунок 6.7 — ROC-кривая классификации женщин со спячным процессом в брюшной полости на основе уровня miR-200a.

AUC=0,714, 95% ДИ [0,586; 0,843]

При помощи критерия Юдена выбрана точка отсечения значения уровня miR-200a:  $2^{-\Delta Ct} = 0,0028$ . При этом значении чувствительность метода 80,6%, специфичность — 50,0%, диагностическая точность — 73,7%.

На основе интеграции полученных результатов был разработан алгоритм обследования пациенток репродуктивного возраста с подозрением на НГЭ и спаечный процесс в брюшной полости (Рисунок 6.8).

После клинико-анамнестического, инструментального и лабораторного обследования мы предлагаем рассчитать вероятность НГЭ при помощи математической модели, основанной на АЧТВ и концентрации общего билирубина сыворотки крови. При высокой вероятности НГЭ возможно уточнить диагноз на основе плазменного уровня *mir183* или (при отсутствии бесплодия)

Предложенный алгоритм позволит избежать неоправданных лапароскопий и более детально обследовать пациентку для поиска других причин выявленных симптомов, а при высокой вероятности НГЭ начать гормональное лечение.

Расчет вероятности НГЭ на основе предлагаемых нами математических моделей доступен по ссылке:



Предложенный алгоритм в период 2020–2022 гг. был валидизирован на выборке пациенток Филиала №1 «Женская консультация» ГБУЗ «ГКБ №29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ» в возрасте от 20 до 48 лет. В Таблице 6.2 представлена динамика доли госпитализированных с эндометриозом женщин за период 2017–2022 гг. по данным гинекологического отделения.

Таблица 6.2 — Динамика доли пациенток с эндометриозом в гинекологическом отделении

	2017		2020		2022	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Всего пациенток	5427	100	6031	100	5592	100
Из них:						
N80	139	2,6	127	2,1	147	2,6
N80.1–80.3	128	2,4	91	1,5	121	2,2
Доля среди N80						
N80.1–80.3		92,1		71,2		82,3
N80.1	113	81,3	87	68,5	117	79,6
N80.2	0	0	1	0,8	1	0,7
N80.3	15	10,8	3	2,4	3	2,0

Как видно из данных Таблицы 6.2, после внедрения алгоритма в клиническую практику женских консультаций, прикрепленных к указанному стационару, доля всех пациенток, госпитализированных с НГЭ (N80.1–80.3), в 2022 г. в сравнении с показателем 2017 г. уменьшилась в 1,2 раза ( $p=0,0136$ ), а доля больных с поражениями тазовой брюшины (N80.3) — в 5,4 раза ( $p=0,0022$ ).

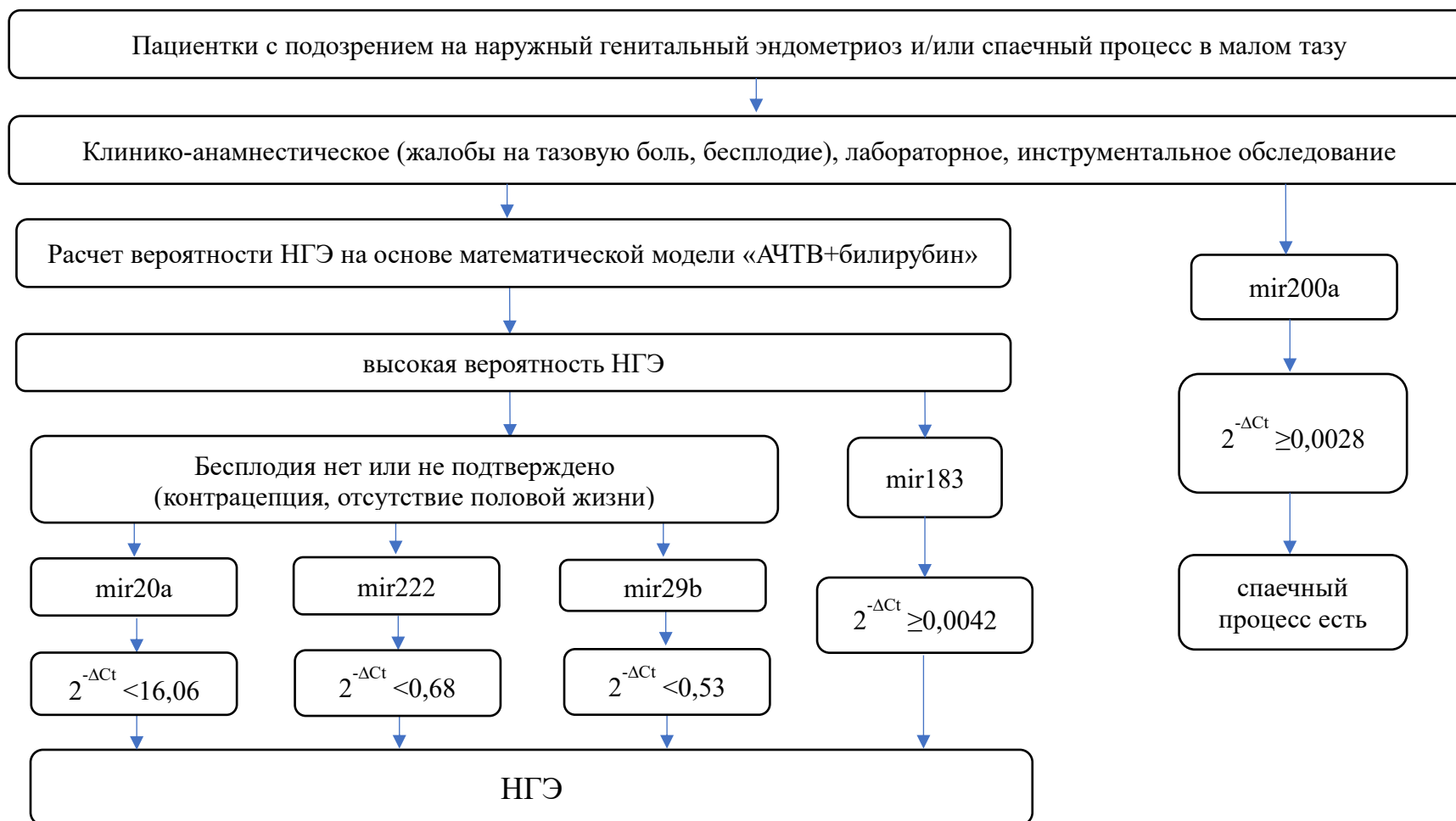


Рисунок 6.8 — Алгоритм обследования пациенток с подозрением на наружный генитальный эндометриоз и спаечный процесс в брюшной полости

## ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

По объективным причинам истинная распространенность эндометриоза неизвестна. Результаты популяционных исследований указывают на интервал 0,8–6%, причем этнические и расовые различия остаются вопросом контраверсионным [39, 92].

Нами подсчитана доля пациенток с эндометриозом среди поступивших за год в гинекологический стационар: 3% женщин с диагнозом «N80 Эндометриоз», из них 69% — наружный генитальный (2% всех госпитализированных в отделение гинекологии), 31% — внутренний. О гораздо большем (9,2%) удельном весе пациенток, госпитализированных в гинекологическую клинику, с эндометриозом в качестве основного диагноза сообщили коллеги из Иваново [16].

Интересно, что у 68% женщин, госпитализированных за год с НГЭ, обнаружены ЭКЯ. Мы считаем, что это обусловлено относительной простотой их обнаружения (бимануальное, УЗИ) в отличие от «малых» перитонеальных форм, диагностировать которые без лапароскопической визуализации невозможно. Последнее и обуславливает существенную задержку в постановке диагноза — по мировым данным, до 4–11 лет [50]. В свою очередь такая задержка в диагностике и своевременном лечении способствует (хотя доказательств тому пока недостаточно) прогрессированию заболевания и формированию спаечного процесса, повышающих риск бесплодия и хронической тазовой боли [50]. В подтверждение тому — распределение пациенток основной группы по стадиям НГЭ: более 70% — с III и IV стадией и отсутствие женщин с I стадией. Предполагаем, что у последних заболевание пока не заподозрено и они ещё «не дожили» до лапароскопической верификации, к моменту которой высок риск обнаружения более поздних стадий НГЭ и спаечного процесса, частота которого у обследованных нами пациенток с эндометриозом достигла 87,0%. Схожие данные описаны другими авторами: 1,4% пациенток — со II стадией, 98,6% — с III–IV, и ни одной — с I. Кроме того, у 84,8% женщин с эндометриозом выявлены ЭКЯ, чаще односторонние (70,7%), что согласуется с нашими наблюдениями 92,6 и 77,8%, соответственно [72].

Результаты проведенного нами анализа клинико-анамнестических данных вполне согласуются с данными литературы.

Так, направленное на поиск факторов риска НГЭ исследование жительниц Кемеровской области также не обнаружило статистически значимой разницы в среднем возрасте пациенток с НГЭ и без него: 31,7 и 31,4 года (в нашей работе он составил 33,7 и 31,7 года соответственно) [2]. Сопоставимый с нашими данными средний возраст ( $29,77 \pm 0,06$  года) прооперированных женщин с эндометриозом отметили Герасимов А.М. и соавт. [16].

Нами не обнаружено статистической разницы в уровне образования между обследованными. Сходную частоту высшего образования у пациенток с эндометриозом и без него (75,3 и 62,0%), но со статистически значимым преобладанием у первых обнаружили Артымук Н.В. и соавт. [2].

Как и в нашей работе, более низкий ИМТ у женщин с НГЭ отмечен Червовым В.О. и соавт.:  $21,55 \text{ кг/м}^2$  в основной группе и  $21,95 \text{ кг/м}^2$  — в контрольной [18]. Однако различия статистически не значимы. Не обнаружила их и группа исследователей из Иваново [6]. Нами не выявлено статистической разницы по ИМТ среди пациенток с различными стадиями НГЭ.

Напротив, статистически значимо более низкий ИМТ при III–IV стадиях НГЭ по сравнению с I–II обнаружили корейские исследователи [33]. Тем интереснее, что проведенный американскими учеными детальный анализ показателей антропометрии и состава тела выявил более низкие значения у страдающих эндометриозом; при I и IV стадиях по сравнению со II и III; при ЭКЯ и/или глубоком эндометриозе по сравнению с поверхностным перитонеальным [26]. Значимо более низкий ИМТ у женщин с эндометриозом обнаружили иранские ученые [159].

Однозначных выводов о связи массы тела с развитием эндометриоза пока не получено [127]. Два высококачественных мета-анализа 2017 и 2019 г. заключили: более высокий ИМТ может снижать риск эндометриоза, а более низкий выступает его риск-фактором. С этим согласуются данные американских коллег, выявивших более низкий ИМТ у страдающих эндометриозом [123]. Более того,

ИМТ < 18,5 кг/м<sup>2</sup> в 18 лет повышал риск аденомиоза в будущем, а более тяжелые стадии эндометриоза коррелировали с более низким ИМТ и наоборот [33, 63, 160].

Возможно, внегонадный синтез эстрогена в жировой ткани нарушает регуляцию менструального цикла у женщин с ожирением, приводя к олиго- и аменорее, что в свою очередь снижает вероятность ретроградной менструации [90].

Тем не менее ожирение не оказывает в данном контексте протективного эффекта [91]. С другой стороны, появляются выводы, что ожирение ассоциировано с более тяжелыми стадиями эндометриоза [150].

Стоит отметить, что ИМТ лишь косвенно отражает наличие ожирения: некоторые женщины с нормальным весом имеют ненормальное распределение жировой ткани или её избыток (>30% массы тела), что известно как синдром NWO — «нормовесное ожирение», частота которого достигает 24%. Следовательно, связь ожирения и эндометриоза у таких женщин нельзя установить измерением ИМТ [127].

Наконец, не решён вопрос: низкая масса тела — причина или следствие эндометриоза?

С одной стороны, известно о различной экспрессии макрофагов жировой ткани в зависимости от массы тела и количества жировой ткани, причем стройность ассоциирована с преобладанием M2-макрофагов, тучность — M1. Макрофаги M2 обладают противовоспалительной активностью и способствуют тканевой регенерации и ангиогенезу, а макрофаги M1, напротив, способствуют воспалению и ингибируют ангиогенез и тканевую регенерацию. Предполагают участие M2 макрофагов жировой ткани в адгезии, имплантации и росте эндометриоидной ткани [53].

Другой возможный патогенетический путь — снижение концентрации адипонектина — представителя семейства цитокинов, синтезируемых в жировой ткани (адипокинов), обладающего противовоспалительными и антиангиогенными свойствами. Обнаружено снижение его концентрации в перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом по сравнению со здоровыми, однако другие исследователи не выявили такой разницы, зато показали повышение другого



представителя адипокинов — резистина, которого уже неоднократно подозревали в причастности к воспалительному процессу [72, 83].

С другой стороны, предполагают, что первично эндометриоз как системное заболевание приводит к снижению массы тела вследствие нарушения генной регуляции метаболизма. На модели эндометриоза мышей показано, что у животных с данным заболеванием статистически значимо меньше ИМТ и масса жировой ткани, но к тому же изменена экспрессия в печени нескольких генов, участвующих в метаболизме [80].

Еще одно объяснение — сопровождающая эндометриоз хроническая тазовая боль, нарушающая аппетит и приводящая к снижению ИМТ [32]. К тому же, используемые для купирования тазовой боли НПВС вызывают побочные эффекты со стороны ЖКТ (включая тошноту и диарею), что также нарушает усвоение пищи [64]. С другой стороны, ХТБ повышает риск эмоционального переедания [41].

Подтверждением же положительной корреляции ожирения и эндометриоза выступает обнаруженное повышение уровня лептина (продуцируемого главным образом адипоцитами) в перитонеальной жидкости страдающих эндометриозом. Высокие уровни лептина увеличивают митотическую активность эндометриальных клеток, а вместе с его ангиогенным действием это (при повышенной массе тела и соответственно повышенном уровне лептина) может способствовать формированию и прогрессии эндометриоидных очагов [94].

Нами отмечена статистически не значимо бóльшая доля куривших среди женщин с НГЭ, но связь вредной привычки с заболеванием не обнаружена (ОШ  $2,0 \pm 1,1$ ; 95% ДИ 0,2–18,8). Данные литературы о связи табакокурения и эндометриоза противоречивы: обследование 473 женщин в 2019 г. её не обнаружили, причем независимо от стажа, интенсивности курения и локализации эндометриоза [123]. Напротив, статистически чаще курили пациентки с эндометриозом в исследовании иранских ученых [160]. Схожие данные получены в работе отечественных и итальянских коллег [18]. Одним из компонентов табачного дыма, ответственных за развитие эндометриоза, рассматривают

бенз(а)пирен — гормоноподобный ксенобиотик, имеющий сродство к рецепторам половых гормонов [18].

Обследованные нами пациентки не отличались по характеристикам менструальной функции, для больных НГЭ не был характерен более ранний возраст менархе и более короткий менструальный цикл. К схожему заключению пришли Красильникова А.К. и соавт. [8]. В то же время противоположны выводы других исследований и мета-анализов [1, 3, 89, 138]. Интересно, что раннее менархе как статистически значимый фактор риска обнаруживали в работах после 2000-х гг. по сравнению с более ранними работами, и риск в странах с низким доходом был выше, чем в экономически более благополучных [97].

Раннее менархе как риск эндометриоза объясняют возможным нарушением гормональной регуляции и более длительным воздействием ретроградной менструации [89]. Продолжительность менструального цикла менее 26 дней ассоциирована с бóльшим риском эндометриоза, чем 26–31-дневная [1]. Интересно, что в нашем исследовании отмечено статистически не значимое ( $p=0,101$ ) увеличение средней продолжительности менструального цикла пропорционально стадии НГЭ: 27,2; 28,1 и 29,2 дня соответственно для II, III и IV стадии. Остаётся открытым вопрос: изменения менструального цикла — причина или следствие эндометриоза?

Показатели репродуктивной функции между двумя группами не отличались: для пациенток основной и контрольной групп характерен низкий паритет ( $0,7\pm 0,9$  родов), малое количество беременностей ( $1,0\pm 1,4$ ) в анамнезе. На отсутствие родов в анамнезе указывали 61,1% пациенток с НГЭ (в контроле — 92,3%,  $p=0,0039$ ). Выявленные особенности репродуктивного анамнеза могут быть отчасти объяснены высокой частотой бесплодия (38,8%) среди всех обследованных, ставшего у некоторых причиной лапароскопии. Частота бесплодия была статистически значимо ( $p=0,0001$ ) в 2,9 раза выше в контрольной группе — 69,2% против 24,1% в основной. Данный факт вполне объясним контингентом женщин контрольной группы: в нее вошли пациентки, направленные на плановую лапароскопию по причине бесплодия и/или хронических ВЗОМТ. Еще одним

препятствием для достоверного сравнения частоты бесплодия в контрольной и основной группах служит тот факт, что истинную частоту бесплодия оценить крайне сложно: часть пациенток не живет половой жизнью, часть использует контрацепцию. Обнаруженная нами частота эндометриоз-ассоциированного бесплодия (24,1%) совпадает с общемировой: 25,35 (95% ДИ: 15,31–39,91) [148]. Большую часть бесплодия у пациенток с эндометриозом составило первичное (84,6%) — схожие данные получили другие исследователи [3, 6].

Стоит отметить, что научный мир не пришел к однозначному выводу о безусловной вине эндометриоза в нарушении фертильности. Масштабное исследование 4612 медицинских сестёр, страдающих бесплодием, показало: эндометриоз двукратно увеличивает риск бесплодия, но вывод статистически значим только для женщин моложе 35 лет с нормальным ИМТ [21]. Данная возрастная граница легко объяснима: после 32 лет фертильность женщин стремительно снижается, но после 37 лет овариальный резерв уменьшается еще более прогрессивно, а риск других причин бесплодия после 35 лет возрастает [28].

Не обнаружена нами корреляция частоты бесплодия со степенью тяжести эндометриоза: его доля была одинакова (46,2%) при II и III стадиях и составила лишь 11,1% — при IV. Сопоставимые результаты показаны Артымук Н.В. и соавт.: среди пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием большую часть составили женщины с I–II стадией (57,3%), тогда как с IV стадией — только 12,7% [2].

В нашей работе статистически значимыми клинико-анамнестическими факторами риска эндометриоза стали заболевания пищеварительной системы (ОШ=9,4; 95% ДИ 3,5–25,3), а именно хронический гастрит (ОШ=2,7; 95% ДИ 1,1–6,8). Его же в качестве фактора риска обнаружили коллеги из Новосибирска: ОШ=6,18; 95% ДИ 2,03–18,83 [6].

Высокая частота заболеваний ЖКТ также отмечена у пациенток с рецидивами НГЭ после его оперативного лечения (54,5%) [15]; статистически значимо они преобладали у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием [6]. Хронический гастрит и энтероколит выявлены Ахмедовой С.Р.

почти у каждой четвертой женщины с эндометриозом и недостаточностью или дефицитом витамина Д, роль которого в патогенезе эндометриоза активно обсуждается в настоящее время [3].

Статистически незначимо ( $p=0,608$ ) в 1,5 раза чаще у обследованных нами женщин с НГЭ диагностирован синдром раздраженного толстого кишечника, что согласуется с проведенными недавно мета-анализами, выявившими более чем двух-, трёхкратный риск развития данного синдрома у пациенток с эндометриозом [68, 69, 142]. Возможное тому объяснение — хроническое воспаление в результате активации тучных клеток, нейрональное воспаление и дисбиоз, влияние которого на развитие эндометриоза широко обсуждается [101]. Связь синдрома раздраженного толстого кишечника и эндометриоза также может быть объяснена наличием в кишечнике ГнРГ-содержащих нейронов и рецепторов лютеинизирующего гормона. Это подтверждается более высокой частотой желудочно-кишечных симптомов во время менструации и большей встречаемостью синдрома раздраженного толстого кишечника у женщин [19, 79].

У каждой восьмой обследованной (12,5%) выявлена анемия, тогда как по оценкам ВОЗ в 2019 г. анемией страдали 29,6% небеременных женщин репродуктивного возраста [164]. Схожие с мировыми данные получили коллеги из Краснодара: 24,6% женщин с анемией в возрасте 18–45 лет [4]. Значительно меньшую частоту анемии (3,7%) выявили Зотов С.В. и соавт. среди 1132 женщин с бесплодием. Однако ими показана статистически значимо бóльшая частота анемии у страдающих НГЭ по сравнению с пациентками без НГЭ (8,11%) [1], тогда как частота анемии у обследованных нами пациенток с НГЭ (14,8%) оказалась статистически не значимо в 1,9 раза выше ( $p=0,174$ ).

Анализ гинекологической заболеваемости выявил статистически значимо ( $p=0,031$ ) более высокую (в 1,3 раза) частоту спаечного процесса в брюшной полости у женщин с НГЭ (ОШ=1,89; 95% ДИ: 1,15–11,04). Связь эндометриоза и спаечного процесса бесспорна, но окончательно не ясно, что следствие, а что причина [24]. Помимо общепризнанной патогенетической цепочки «эндометриоз — воспаление — спаечный процесс», предложены теории,

объясняющие роль спаек в малом тазу в формировании ЭКЯ и ректовагинального эндометриоза [25, 56].

У 15,4% женщин контрольной группы выявлена миома матки, что статистически незначимо ( $p=0,508$ ) в 1,2 раза выше, чем у пациенток с НГЭ. Результаты других исследователей, наоборот, показывают более высокую встречаемость миомы у больных эндометриозом (33,7%), чем без такового (15,5%) [3].

У пациенток с эндометриозом оказалась статистически незначимо ( $p=0,304$ ) в 1,9 раза выше частота дисплазии молочных желез. Это вполне согласуется с данными литературы: у пациенток с эндометриозом обнаружено умеренное повышение риска доброкачественных заболеваний молочных желез. Интересно, что риск был повышен только у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием (ОР: 1,50, 95% ДИ: 1,12–2,03), но не повышался у женщин с эндометриозом и ненарушенной фертильностью (ОР: 0,93, 95% ДИ: 0,65–1,33) [22]. Статистически значимая связь между доброкачественными изменениями молочной железы и эндометриозом методами машинного обучения обнаружена группой корейских ученых. Корреляцию объясняют участием эстрогена в патогенезе обоих заболеваний [98].

Частота хронических воспалительных заболеваний придатков матки оказалась статистически значимо ( $p=0,0000$ ) в 8,3 раза выше в контрольной группе, что можно объяснить особенностью ее формирования.

Частота хронической тазовой боли у обследованных нами пациенток с НГЭ (11,1%) оказалась статистически не значимо в 1,44 раза выше женщин без эндометриоза, но значительно ниже обнаруженной в работе Артымук Н.В. и соавт. — 41,3% [2].

Подводя итог обсуждению клинической характеристики обследованных, отметим некоторую неоднородность сравниваемых групп: 69,2% пациенток контрольной группы страдали бесплодием, 61,5% — хроническими ВЗОМТ, что могло исказить результаты молекулярно-биологического исследования. Но, с другой стороны, потенциальный неинвазивный тест должен доказать свою

эффективность в выявлении эндометриоза не среди здоровых, а среди тех, у кого на основании клинико-инструментального исследования его исключить невозможно: у женщин с хронической тазовой болью и бесплодием вероятно трубно-перитонеального генеза.

Результаты лабораторных исследований позволили выявить некоторые различия между группами обследованных. Показатели общеклинического анализа крови находились в референсных интервалах и межгрупповых различий не обнаружено. Не различались по показателям общего анализа крови женщины с разными стадиями эндометриоза. Напротив, иранские исследователи указывают на более низкое количество лимфоцитов, тромбоцитов и концентрации гемоглобина, но более высокое количество лейкоцитов, в частности нейтрофилов, у пациенток с эндометриозом. Кроме того, уровень лейкоцитов при III стадии оказался статистически незначимо выше, чем при IV [72]. Аналогичные наблюдения описывают Turgut A. и соавт. [56], однако их не подтвердили коллеги из Турции, не обнаружившие статистически значимой разницы в количестве лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, тромбоцитов, ретикулоцитов, концентрации гемоглобина. Конечно, во внимание стоит принять меньшее количество пациенток в группах сравнения [150].

Нами не обнаружено более низкой концентрации гемоглобина и количества эритроцитов у пациенток с эндометриозом. Напротив, в недавнем исследовании уровни гемоглобина, гематокрита, среднего объема эритроцитов и средней концентрации гемоглобина в эритроците оказались статистически значимо ниже у пациенток с эндометриозом в целом, а при III–IV стадиях ниже, чем при I–II. Но количество эритроцитов (как и в нашей работе), показатель насыщения эритроцита гемоглобином не различались [44]. Обратную связь между концентрацией гемоглобина и эндометриозом объясняют следующим.

Согласно теории Sampson, ведущую роль в патогенезе перитонеального эндометриоза играет ретроградная менструация — заброс отторгнутого эндометрия и эритроцитов [144]. Повышение концентрации эритроцитов в брюшной полости было обнаружено у пациенток с эндометриозом, а их лизис в

брюшной полости становится причиной перегрузки железом, которую рассматривают в качестве индуктора оксидативного стресса, обеспечивающего выживание эктопических очагов и их васкуляризацию [129]. Таким образом, отрицательная корреляция между тяжестью эндометриоза и определёнными показателями «красной крови», вероятно, обусловлена дисрегуляцией обмена железа.

Однако прямо противоположны результаты отечественных исследователей, обнаруживших убывание концентрации гемоглобина и количества эритроцитов в группах «эндометриоидная киста яичника» → «аденомиоз» → «эндометриоз тазовой брюшины» → «эндометриоз кожного рубца». К тому же количество пациенток с показателями гемоглобина и эритроцитов ниже нормы оказалось статистически значимо выше среди женщин без эндометриоза [14]. Возможное объяснение описанной закономерности — влияние на гемопоэз эритропоэтина, синтезируемого в эндометриоидных очагах [139]. Более высокие показатели гемоглобина и эритроцитов у женщин с ЭКЯ авторы объясняют интенсивной васкуляризацией эндометриом в отличие от перитонеальных гетеротопий и эндометриоза кожного рубца.

В противовес — обнаруженное снижение уровня гемоглобина плазмы при глубоком инфилтративном эндометриозе, ассоциированное с гипоксией, выступающей промотором развития заболевания [38].

Таким образом, диагностируемая железodefицитная анемия у пациенток с эндометриозом (особенно не страдающих АМК) может быть рассмотрена не как следствие заболевания, а как его причина.

Среди параметров биохимического анализа крови статистические различия выявлены только по концентрации билирубина: она оказалась в 1,75 раза меньше у страдающих эндометриозом. Нами не обнаружено работ, показавших разницу в концентрации сывороточного билирубина между пациентками с эндометриозом и здоровыми. Вместе с тем роль билирубина в патогенезе эндометриоза в литературе обсуждается весьма активно. Помимо основного пути образования билирубина при метаболизме гемоглобина, значительная его часть синтезируется повсеместно в

различных тканях из негемоглобинового гема внутриклеточных гемопротеинов (цитохромов, каталаз, пероксидаз). В катаболизме внутриклеточного гема участвуют ферменты гемоксигеназы HO-1 и HO-2. В свою очередь синтез HO-1 регулируется Nrf2 — фактором, активирующим защитные системы клетки (включая HO-1) против различных стрессоров. Обнаружено, что оксидативный/нитрозативный стресс, воспаление и митохондриальная дисфункция активируют ось Nrf2–HO-1, что приводит к повышению образования билирубина, обладающего антиоксидантными и сигнальными свойствами [35, 36].

Изложенное позволило рассматривать тканевые уровни билирубина в качестве индикатора стрессовых стимулов — оксидативного стресса и воспаления, ассоциированных с эндометриозом, синдромом поликистозных яичников [36] (рисунок 7.1).

В фолликулярной жидкости пациенток с эндометриозом обнаружили статистически значимо более высокие концентрации билирубина и HO-1, чем у здоровых женщин [20]. Другими авторами показано, что в фолликулярной жидкости пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием концентрация свободного, общего и связанного билирубина была в 2–3 раза выше, чем в фолликулярной жидкости женщин с ненарушенной фертильностью [36].



Рисунок 7.1 — Возможная роль билирубина в патогенезе эндометриоза

Возможно, выявленное нами снижение концентрации билирубина в крови пациенток с эндометриозом отражает недостаточность антиоксидантных систем.

В нашей работе не выявлено статистически значимых различий по уровню общего белка, мочевины, креатинина, глюкозы, АЛТ, АСТ. Напротив,



исследователями из Китая описано статистически значимое снижение сывороточной концентрации общего белка и глюкозы у пациенток с I–II стадиями эндометриоза, что, возможно, связано с нарушениями гормональной регуляции и пищевого поведения [31].

У обследованных нами пациенток с эндометриозом обнаружено статистически значимо меньшее АЧТВ ( $p=0,03$ ) и отсутствие разницы в протромбиновом времени и концентрации фибриногена, что частично совпадает с выводами китайских коллег: ими описано сокращение АЧТВ, протромбинового и тромбинового времени у 48 женщин с эндометриозом и повышение концентрации фибриногена. Интересно, что АЧТВ было значимо короче не только по сравнению с женщинами без эндометриоза, но и короче при наличии овариального эндометриоза по сравнению с другими локализациями [95]. Статистически значимо более короткое АЧТВ и тромбиновое время, повышенная концентрация фибриногена и отсутствие разницы протромбинового времени были обнаружены у женщин с III–IV (но не с I–II) стадиями овариального эндометриоза по сравнению с пациентками без такового [167]. Не исключено, что в патогенезе заболевания играет роль локальная система коагуляции. Укорочение АЧТВ — косвенный маркер, отражающий повышение факторов свертывания и изменение гемостатического баланса в сторону тромбообразования. Вместе с тем, известно, что воспаление посредством тканевых факторов активизирует свертывающую систему, но и та в свою очередь влияет на активность воспаления. Учитывая известный факт экспрессии тканевых факторов эндометриоидными очагами, авторы допускают наличие связи между эндометриозом и свертывающей системой, но предполагают и альтернативный механизм: нарушение коагуляции как причина развития и прогрессирования эндометриоза [51].

У пациенток с эндометриозами измерены уровни трёх онкомаркеров (СА-125, НЕ4 и СА-19-9). Их медианы находились в пределах референсных значений и только у каждой третьей, двадцатой и восьмой пациентки уровни соответствующих онкомаркеров выходили за пределы пороговых значений. Напротив, медиана СА-

125 в исследовании 713 женщин с эндометриомами составила 44 Ед/мл [67], а у 74% из 147 пациенток с эндометриозом уровень СА-125 был выше  $> 35$  Ед/мл [72].

Не обнаружено статистической разницы между уровнями онкомаркеров и различными стадиями эндометриоза. Противоположны выводы других авторов: одними описаны значимо более высокие уровни СА-125 и НЕ4 (но не СА-19-9) при III–IV стадиях, чем при I–II [31], другими — значимо более высокие уровни СА-125 и СА-19-9 [167].

Противоречивость результатов исследования самого популярного онкомаркера эндометриоза — СА-125 — рассмотрена в аналитическом обзоре его роли в диагностике, стадировании и терапии данного заболевания. Действительно, СА-125 позволяет с известной диагностической точностью выявить эндометриоз, предсказать степень тяжести, оценить эффективность лечения и риск малигнизации; построенные на его основе классификаторы могут помочь в выборе между консервативным и хирургическим лечением. Однако, ввиду существенного влияния на его сывороточный уровень фазы менструального цикла, наличия сопутствующих опухолей и других факторов, принятый порог отсечки в 35 Ед/мл не может быть расценен в качестве абсолюта для выявления эндометриоза. По этой причине повысить диагностическую ценность СА-125 пытаются за счет комбинации с другими биомаркерами, например, НЕ4. Авторы заключают: необходимы дальнейшие систематизированные исследования диагностической роли СА-125 [136]. Аналогична позиция ESHRE: для подтверждения эндометриоза не следует измерять уровень биомаркеров [71].

В нашей работе чувствительность трансвагинального УЗИ в идентификации ЭКЯ составила 98%, специфичность — 96,2%, что согласуется с мета-анализом: 93% (95% ДИ: 87–99%) и 96% (95% ДИ: 92–99%) соответственно [52]. Безусловно, столь высокие показатели обусловлены относительной простотой обнаружения эндометриом, чего нельзя сказать о перитонеальных (поверхностных) очагах, для которых хорошая специфичность трансвагинального УЗИ — 95% (95% ДИ: 89–100%) — перевешивается крайне низкой чувствительностью: 65% (95% ДИ: 27–100%). МРТ в этом контексте обладает куда более скромными показателями: 72 и

79%, соответственно [71]. Это напрямую влечёт задержку постановки верного диагноза. Возможно, по этой причине большинство вошедших в наше исследование пациенток (92,6%) — с наиболее легко выявляемой формой заболевания — ЭКЯ.

Несмотря на значительный размах (от 15 до 130 мм), средний размер эндометриом составил 40,1 мм, Me (25%; 75%) = 34,5 мм (30,0; 50,5). Схожие результаты у других исследователей:  $46,8 \pm 2,17$  мм [74]; Me (25%; 75%) = 53 мм (38; 73) [67].

Нами выявлена положительная умеренной силы корреляция уровня СА-125 и размера эндометриомы, однако во внимание стоит принять различную степень распространённости перитонеальных поражений, одно- и двусторонность поражения яичников, что также могло повлиять на уровень СА-125. В свою очередь, положительная корреляция СА-125 и стадии эндометриоза в литературе описана многократно, но вне связи с размерами эндометриом [54].

При сравнении экспрессии 10 микроРНК между двумя группами статистически значимые отличия выявлены только по одной: плазменная экспрессия miR-183 у пациенток с НГЭ статистически значимо в 1,5 раза превышала таковую у пациенток контрольной группы ( $p=0,017$ ). Это позволило нам построить при помощи ROC-анализа классификатор, дифференцирующий пациенток с НГЭ.

В противовес обнаруженной нами повышенной плазменной экспрессии miR-183, описано снижение её экспрессии в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим, снижение одновременно в эуто- и эктопическом эндометрии у женщин с эндометриозом по сравнению со здоровыми [59, 62]. Показано, что miR-183 стимулирует апоптоз эндометриальных стромальных клеток, подавляет их инвазивную способность, но не влияет на клеточную пролиферацию.  $17\beta$ -эстрадиол, прогестерон и провоспалительные цитокины TNF- $\alpha$  и IL-6 экспрессию miR-183 подавляли. На основании этих данных авторы пришли к выводу: снижение уровня miR-183 способствует пролиферации и инвазии эндометриальных стромальных клеток, а значит, прогрессии эндометриоза [62]. Но эти выводы не однозначны. За последние годы множество исследований обнаружило изменения

экспрессии miR-183 при различных видах опухолей и они были прямо противоположны даже при одних и тех же заболеваниях. miR-183 регулирует клеточную пролиферацию, миграцию, инвазию и эпителиально-мезенхимальный переход, но очевидно, в различных тканях совершенно по-разному, поскольку мишень данной микроРНК — сотни генов [108].

Нами не выявлена разница в экспрессии miR-200a, хотя по данным литературы, представители семейства miR-200 — одни из наиболее частых, чья экспрессия меняется при эндометриозе. Эктопический эндометрий обладает многими характеристиками злокачественной ткани — инвазивность, высокая пролиферативная активность и метастазирование. Обнаружено, что значимое снижение экспрессии представителей семейства miR-200 индуцирует эпителиально-мезенхимальный переход — предположительно, один из ключевых этапов патогенеза эндометриоза [153].

В отличие от нашей работы, на небольшой выборке (по 24 женщины контрольной и основной групп) показано повышение экспрессии miR-125b в сыворотке крови у пациенток с эндометриозом [146]. Позже этими же авторами обнаружена более высокая экспрессия miR-125b у женщин с эндометриозом, чем у пациенток с другими доброкачественными образованиями (в основном, миомой матки) [23]. Одна из предсказанных мишеней miR-125b — регулятор клеточного цикла и апоптоза TP53. Предполагают, что гиперэкспрессия miR-125b приводит к подавлению TP53, опухолесупрессорного белка, угнетающего клеточную миграцию, пролиферацию эндотелиальных клеток сосудов и стимулирующего апоптоз [88].

Нами не выявлено разницы в плазменной экспрессии miR-126 у женщин двух групп. Экспрессия этой микроРНК была снижена в эктопическом по сравнению с эутопическим эндометрием у пациенток с эндометриозом и снижена по сравнению с эндометрием здоровых женщин. Такое снижение коррелировало с повышением экспрессии онкогена Ccrk, ответственного за клеточную миграцию, инвазию, фагоцитоз и выживаемость. Наблюдения позволили группе китайских ученых предположить, что следующее за снижением miR-126 повышение Ccrk облегчает

миграцию клеток эутопического эндометрия из полости матки и их выживаемость в эктопических участках — начальные этапы патогенеза эндометриоза [76].

Статистически не различалась среди обследованных нами пациенток экспрессия *mir-16*, между тем как группой американских коллег выявлено ее повышение как у пациенток с эндометриозом, так с эндометриоз-ассоциированными опухолями яичников [126]. В то же время показано снижение экспрессии *mir-16* одновременно в эутопическом и эктопическом эндометрии при эндометриозе; снижение в эктопическом по сравнению с эутопическим [13, 102]. Предполагают, что данная микроРНК препятствует инвазии эндометриальных клеток, блокируя внутриклеточный сигнальный путь IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B, гиперактивация которого характерна для некоторых типов злокачественных опухолей (рисунок 7.2). Вдобавок, гиперэкспрессия *mir-16* замедляла *in vitro* адгезию, миграцию и инвазию эндометриальных стромальных клеток.

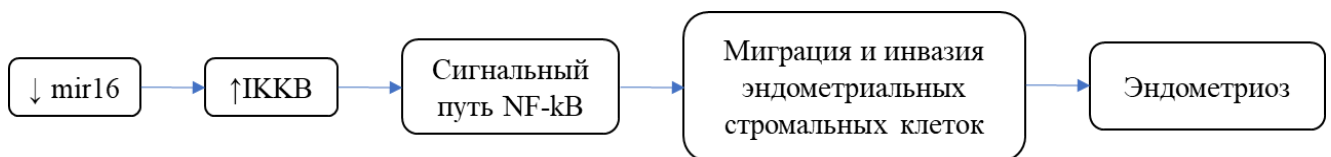


Рисунок 7.2 — *miR16* в патогенезе эндометриоза

Нами не обнаружено изменение экспрессии *mir-15a*, тогда как сообщают о значимом снижении её экспрессии в эктопическом эндометрии параллельно с повышением проангиогенного белка VEGF [100]. Позже было показано, что *mir-15a* ингибирует пролиферацию, инвазию и миграцию клеток (механизмы, характерные для эндометриоза) эндометриальной карциномы, блокируя VEGF и сигнальный путь Wnt/ $\beta$ -катенин. Последний — один из основных регуляторов деятельности клеток: пролиферации, дифференцировки, миграции, генетической стабильности, апоптоза и самообновления. За последние годы описана его роль в развитии многих пролиферативных заболеваний, а перспективные ингибиторы этого сигнального пути рассматривают в качестве их потенциальной терапии [107].

В нашей работе не обнаружено разницы в плазменной экспрессии *mir-21*. Результаты других исследователей противоречивы: одними обнаружено её

повышение в эндометриоидных кистах по сравнению с эутопическим эндометрием, повышение в эпителии маточных труб при их эндометриозе в сравнении с непораженными; другими не выявлено различия между эутопическим эндометрием больных эндометриозом и здоровых женщин, но показано снижение экспрессии в перитонеальных очагах и очагах глубокого инфильтративного эндометриоза по сравнению с эутопическим эндометрием [78, 110]. Обнаружена зависимость уровня экспрессии от локализации гетеротопий: экспрессия в перитонеальных очагах оказалась ниже, чем в эндометриоидных кистах [104]. Снижение плазменной концентрации miR-20a и miR-21 у женщин с эндометриозом по сравнению со здоровыми показано в работе иранских исследователей [86].

Предполагают, что miR-21 участвует в патогенезе эндометриоза за счет влияния на опухолевый супрессор PTEN, регулятор клеточной гибели Bcl-2 и гликопротеин RECK — ингибитор матричных протеиназ, обеспечивающих инвазию и метастазирование опухолевых клеток [104]. Описано участие miR-21 в активации эпителио-мезенхимального перехода — возможно, за счет подавления опухоле-супрессорного гена SOX17. Возможная взаимосвязь измененной экспрессии указанных генов при раке эндометрия обнаружена в недавнем исследовании [103]. Повышение экспрессии miR-21 и снижение TGF- $\beta$ 1, SMAD3 и ILK в гетеротопических очагах при по сравнению с эутопическим эндометрием пациенток с эндометриозом позволили польским ученым предположить ингибирующую роль miR-21 в сигнальном пути TGF- $\beta$ 1–SMAD3–ILK — регуляторе эпителио-мезенхимального перехода [152].

Поскольку одна из главных задач будущего неинвазивного теста — выявлять среди пациенток с нарушенной фертильностью женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием, мы оценили экспрессию 10 микроРНК у бесплодных пациенток обеих групп и не обнаружили статистически значимой разницы. Возможно, одни и те же патологические процессы в малом тазу при ассоциированном и неассоциированном с НГЭ бесплодии одинаково влияют на экспрессию изученных микроРНК.

Сравнение же экспрессии 10 микроРНК у пациенток обеих групп с ненарушенной фертильностью выявило 3 микроРНК (miR-20a, miR-222 и miR-29b), экспрессия которых при НГЭ была статистически значимо снижена. Литературный поиск дает чрезвычайно противоречивые результаты.

Повышенную экспрессию miR-20a в тканях ЭКЯ в сравнении с доброкачественными опухолями, причем ассоциированную с более тяжелыми стадиями (III–IV), наблюдали Zhao M. и соавт. Они также показали снижение при ЭКЯ экспрессии одного из многих генов-мишеней указанной микроРНК — NTN4, подавляющего ангиогенез [116]. В противоположность — результаты итальянских ученых: экспрессия miR-20a в эктопических очагах оказалась ниже эутопических, и с этим связали повышение экспрессии одних её генов-мишеней (CAV1/2, FZD7, KCNMA1, LMO3) и снижение — других (PLS1, RPS6KA5) [59]. Указанные гены кодируют белки, участвующие в жизненных циклах клетки, межклеточных взаимодействиях и пр. Так, кавеолин 1 и 2 (продукты генов CAV1/2) — входят в состав плазматической мембраны преимущественно эпителиальных, эндотелиальных клеток, адипоцитов, фибробластов и пневмоцитов и играют существенную роль в механизмах пролиферации, апоптоза, эпителио-мезенхимального перехода, миграции клеток и инвазии — неотъемлемых при эндометриозе [42]. Суммируя имеющиеся представления о влиянии сниженной при эндометриозе экспрессии miR-20a на гены-мишени, Ohlsson T. и соавт. предложили следующую патогенетическую цепочку (рисунок 7.3) [154].

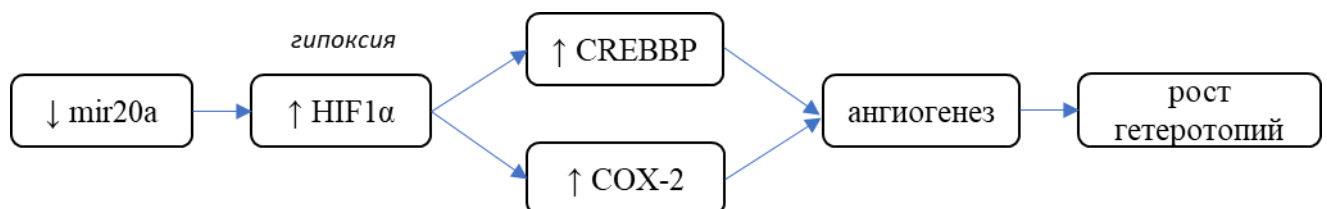


Рисунок 7.3 — miR20a в патогенезе эндометриоза

Снижение экспрессии циркулирующей miR-20a в сыворотке и плазме крови показано в нескольких работах [30, 131]. Роль данной малой РНК многогранна. По-

мимо указанного выше, ее снижение, как и *mir-200a*, способствует реализации эпителио-мезенхимального перехода. Более того, мишенью *mir-20a* выступает трансформирующий фактор роста TGF- $\beta$  и ИЛ-8, так что снижение *mir-20a* повышает концентрации данных цитокинов, что в свою очередь способствует воспалению и репарации тканей, внося вклад в разрастание эндометриоидной ткани. Наконец, TGF- $\beta$  — еще один промотор эпителио-мезенхимального перехода [153].

Выявленное нами снижение плазменной экспрессии *mir-29b* не описано в литературе при эндометриозе, но обнаружено при многих эпителиальных опухолях (гепатоцеллюлярная карцинома, немелкоклеточный рак легкого, рак желудка, простаты, колоректальный рак и другие). Описана роль *mir-29b* в подавлении пролиферации, усилении апоптоза и клеточной дифференцировки клеток эндометрия, в том числе прямой регуляций онкосупрессора PTEN, подавлении ангиогенеза воздействием на VEGF [61, 104, 117, 118, 119]. Как известно, нарушения указанных механизмов лежат в основе в том числе эндометриоза.

В нашем исследовании уровень экспрессии *mir-222* был снижен у пациенток с эндометриозом, что идёт в разрез с существующими представлениями о проонкогенной роли данной микроРНК. Описано повышение ее экспрессии при раке желудка, мочевого пузыря, печени, лёгких, молочной железы, эндометрия, яичников. В то же время рассматривают и онкосупрессивное действие *mir-222* при раке простаты, плоскоклеточном раке ротовой полости [140]. В очередной раз можно убедиться, что множество генов-мишеней для одной и той же микроРНК определяет прямо противоположные эффекты эпигенетических регуляторов.

Наконец, в недавней работе было показано, что в эндометрии пациенток с эндометриозом экспрессия провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  была повышена, а экспрессия *mir-222* — снижена по сравнению с экспрессией в эндометрии здоровых женщин. Более того, добавление TNF- $\alpha$  в среду для культивирования клеток эндометрия женщин без эндометриоза привело к дозозависимому снижению экспрессии 13 изученных в работе микроРНК, включая измеренные нами *miR-125b*, *miR-126*, *miR-222a* и *miR-29b*. Полученные результаты могут говорить о связи провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  и экспрессии перечисленных микроРНК [158].



Нам не удалось выявить статистически значимую разницу в экспрессии микроРНК в зависимости от стадии НГЭ (во внимание стоит принять неравномерное распределение пациенток по стадиям и отсутствие женщин с I стадией). Безусловно, возможность такого неинвазивного стадирования — ключ к персонифицированному ведению пациенток, особенно с учетом новых рекомендаций Европейского Общества по репродукции человека и эмбриологии: лапароскопия отныне не выступает «золотым» стандартом диагностики эндометриоза; в приоритете — неинвазивные методы и эмпирическое лечение [71]. В этой связи перспективны результаты других исследователей: одни показали диагностическую ценность miR-199a, miR-122 в дифференциации между I–II и III–IV стадиями [59]; другие — возможность на основе сывороточной экспрессии miR-26b-5p, miR-215-5p и miR-6795-3p не только дифференцировать пациенток с овариальным эндометриозом и без него, но и начальные стадии (I–II) от более тяжелых (III–IV), а также пациенток с нарушенной фертильностью и сохранённой [145].

Выявленная сильная (для miR-21 и miR-126, miR-20a и miR-16) и умеренной силы (для остальных пар микроРНК) статистически значимая положительная попарная корреляция экспрессии большинства изученных микроРНК у пациенток с НГЭ может свидетельствовать об общности их участия в патогенезе эндометриоза, что подтверждается вовлеченностью целых семейств микроРНК в описанные выше процессы ангиогенеза, репарации, апоптоза, эпителио-мезенхимального перехода и других ключевых клеточных процессов.

Наконец, в нашей работе неожиданной оказалась статистически значимо более высокая (в 2,0 раза) экспрессия miR-200a у пациенток обеих групп (с эндометриозом и без него) со спаечным процессом в малом тазу. Возможность неинвазивной диагностики адгезивного процесса в брюшной полости (и не только при эндометриозе) — пока что нерешенный вопрос, однако литературный поиск обнаружил лишь единичные работы, посвященные этой проблеме. В одной из них описана предсказательная ценность уровня СА-125 и лейкоцитов в диагностике спаечного процесса у пациенток с эндометриозом, в другой — СА-125 и тромбоцитарно-лейкоцитарного соотношения [55, 81].

Спаечный процесс брюшины — защитная реакция организма, направленная на отграничение патологического процесса в брюшной полости путём формирования спаек — соединительно-тканых тяжей, так что его можно рассматривать как одно из проявлений фиброза.

Брюшина может подвергаться различным патологическим воздействиям (хирургические вмешательства, ранения, микроорганизмы), что приводит к активизации, пролиферации гемопоэтических и негемопоэтических клеток, восстанавливающих брюшину. Элиминация повреждающего агента подавляет воспаление, и ткань заживает. Но если раздражающий агент персистирует (например, при эндометриозе или хронических ВЗОМТ), развивается фиброз, или рубцевание [170]. Хроническое воспаление с постоянным восстановлением и ремоделированием брюшины весьма характерны для НГЭ: присутствие эктопической ткани в брюшной полости ассоциировано с гиперпродукцией простагландинов, цитокинов и хемокинов [128]. Роль микроРНК в регуляции перечисленных (и не только их) веществ неоднократно обсуждалась ранее, так что вполне закономерно ожидать изменения экспрессии эпигенетических регуляторов при не физиологически протекающих процессах в брюшине. Первые наблюдения уже опубликованы: экспрессия miR-200a (та же самая!) была снижена при диализ-ассоциированном перитонеальном фиброзе у крыс. Более того, введение в перитонеальную полость аналога miR-200a снижало концентрацию коллагена в перитонеальной жидкости и предотвращало спайкообразование [115]. Безусловно, это пока только первые шаги на пути к реальной терапии перитонеальных спаек.

Конечно, нельзя не заметить, что описанное китайскими коллегами изменение экспрессии miR-200a прямо противоположно нашему наблюдению (противоречивость получаемых результатов экспрессии в работах разных авторов не раз подчеркнута в данной главе), но, во-первых, речь идет о совершенно разных биологических видах и патогенетических путях фиброза, а во-вторых, сам факт статистически значимо измененной экспрессии микроРНК при спаечном процессе даёт надежду на их возможное применение в будущем в качестве биомаркеров.

Отсутствие в нашей работе статистически значимых различий в экспрессии микроРНК у пациенток с НГЭ в зависимости от наличия спаечного процесса, возможно, связано с высокой его частотой среди обследованных женщин с эндометриозом (87,0%), а также общностью патогенеза эндометриоза и спаечного процесса, в который вовлечены изученные микроРНК. В то же время другими исследователями обнаружено повышение экспрессии miR-141 у страдающих эндометриозом пациенток со спаечным процессом по сравнению с пациентками без него. По мнению авторов, тест, способный на дохирургическом этапе диагностировать спаечный процесс при подозреваемом эндометриозе, будет особенно востребован для пациенток с бесплодием [59].

**Резюме.** Неоднородность изучаемого по всему миру контингента женщин с эндометриозом (по расе, возрасту, репродуктивному анамнезу, коморбидности, формам, стадиям и «стажу» эндометриоза) и чрезвычайная вариабельность дизайна исследований (количество участниц, вид биоматериала, характеристики контрольной группы) приводят к их весьма контраверсионным выводам. И если описываемые в мировой литературе клиничко-анамнестические особенности страдающих эндометриозом довольно однозначны, то результаты молекулярно-биологических исследований зачастую прямо противоположны. Последнее подчеркивает, что мы пока далеки от окончательного понимания этиологии, патогенеза и самое главное — возможности безошибочной неинвазивной диагностики и прогнозирования изучаемого заболевания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаруженная нами статистически значимая разница плазменных концентраций микроРНК у пациенток с НГЭ и без такового позволила разработать алгоритм диагностики наиболее сложной с точки зрения своевременного обнаружения формы эндометриоза, что позволит сократить задержку его лапароскопической верификации. К настоящему времени нет простого теста, способного диагностировать спаечный процесс в брюшной полости. Вместе с тем известно, что НГЭ длительное время может протекать малосимптомно, но с формированием спаек в малом тазу, нарушающих нормальную анатомию половых органов и ухудшающих фертильность. Предложенный на основании уровней микроРНК способ неинвазивной диагностики спаечного процесса в малом тазу может способствовать своевременной диагностике НГЭ как причины.

Проведенное исследование дает основание сделать следующие **выводы:**

1. Среди пациенток гинекологического стационара диагноз «Эндометриоз» (N80) встречается у 2,6%, в том числе 81,3% госпитализируются по поводу эндометриоза яичников (N80.1), причем средний размер кист достигает  $40,1 \pm 18,9$  мм.

2. Пациенток с наружным генитальным эндометриозом, поступивших в гинекологический стационар, отличают: молодой возраст (в среднем –  $33,7 \pm 7,2$  года,  $p > 0,05$ ), более высокая частота тазовых перитонеальных спаек (87,0% против 65,4% в контроле,  $p < 0,05$ ), более высокая встречаемость болезней системы пищеварения (55,6% против 23,1%,  $p < 0,05$ ), в том числе хронического гастрита (46,3% против 19,2%,  $p < 0,05$ ), а также более низкие показатели АЧТВ ( $30,6 \pm 2,8$  с против  $32,9 \pm 3,4$  с в группе без НГЭ,  $p < 0,05$ ) и концентрации общего билирубина ( $9,2 \pm 3,6$  против  $16,1 \pm 9,1$  ммоль/л,  $p < 0,05$ ). Большинство женщин (72,2%) не предъявляют жалоб и направляются для хирургического лечения эндометриоидных кист яичников (у 14,8% - билатеральных). При этом 61,1% пациенток не имеют в анамнезе родов, а 24,1% — бесплодны.

3. Клинико-anamнестическим фактором риска верификации наружного генитального эндометриоза следует считать наличие у пациентки болезней системы пищеварения (ОШ=9,4; 95% ДИ 3,5–25,3), прежде всего хронического гастрита (ОШ=2,7; 95% ДИ 1,1–6,8).

4. Уровень miR-183 позволяет диагностировать НГЭ при его значении  $2^{-\Delta Ct} \geq 0,0042$  (чувствительность — 72,5%, специфичность — 61,5%, диагностическая точность — 68,8%). Определение в крови уровня miR-200a позволяет верифицировать спаечный процесс в малом тазу при значении  $2^{-\Delta Ct} \geq 0,0028$  (чувствительность — 80,6%, специфичность — 50,0%, диагностическая точность — 73,7%).

5. Исследованные микроРНК не имеют диагностической значимости для выявления наружного генитального эндометриоза среди пациенток с установленным бесплодием. Однако уровни miR-20a, miR-222 и miR-29b применимы для его верификации у фертильных женщин.

6. Разработанная математическая модель прогноза с использованием в качестве предикторов показателей АЧТВ и общего билирубина сыворотки крови позволяет рассчитать персональную вероятность наличия у пациентки наружного генитального эндометриоза с чувствительностью 90,8% и специфичностью 74,0%.

7. Предложенный алгоритм обследования пациенток репродуктивного возраста с использованием разработанной математической модели позволяет на догоспитальном этапе выделить контингент высокого риска наличия наружного генитального эндометриоза и тазовых перитонеальных спаек, обосновать необходимость углубленного обследования, а также целесообразность и (при наличии показаний) время выполнения хирургического вмешательства. Внедрение разработанного алгоритма позволило за 5 лет снизить долю пациенток, поступающих в стационар с диагнозом НГЭ (N80.1–80.3) среди всех больных эндометриозом в 1,2 раза ( $p=0,0136$ ), с диагнозом «эндометриоз тазовой брюшины» (N80.3) — в 5,4 раза ( $p=0,0022$ ).

**Практические рекомендации:**

1. Для вычисления вероятности верификации наружного генитального эндометриоза может быть использована математическая модель, учитывающая уровень АЧТВ и концентрацию билирубина в сыворотке крови.

2. Пациенткам с подозрением на наружный генитальный эндометриоз для повышения эффективности его неинвазивной диагностики после клинико-инструментального обследования может быть предложено определение уровней miR-20a, miR-222, miR-29b и miR-183.

3. После клинико-инструментального обследования пациенткам с ХТБ или бесплодием с целью неинвазивной диагностики спаечного процесса в брюшной полости может быть предложено исследование уровня miR-200a.

**Перспективы дальнейшей разработки темы.** Данное исследование не позволило установить статистической разницы в уровнях микроРНК у пациенток с бесплодием. Но именно тест, позволяющий дифференцировать женское бесплодие — ассоциированное с эндометриозом и без такового, как правило, трубно-перитонеального генеза, — станет ключевым инструментом в персонифицированном ведении пациенток с нарушенной фертильностью. Чрезвычайно актуальна разработка неинвазивного теста, дифференцирующего стадию НГЭ, что принципиально важно для выбора тактики ведения. Это позволит избежать ненужных оперативных вмешательств и у неперспективных для хирургического лечения пациенток использовать альтернативные пути оздоровления.

Существующие методы не позволяют со 100% диагностической точностью дифференцировать ЭКЯ от других опухолей и опухолевидных образований яичника, а значит внедрение неинвазивного теста (например, на основе микроРНК) перспективно для повышения точности предоперационной диагностики.

Не менее востребован неинвазивный способ диагностики спаечного процесса, причем тест должен быть высокоспецифичным у пациенток с эндометриозом.

Наконец, перспективна разработка неинвазивного теста, способного дифференцировать эндометриоз при наличии сопутствующих гинекологических заболеваний, таких как аденомиоз и опухоли яичников, ставших критериями исключения в данной работе.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время

ВЗОМТ — воспалительные заболевания органов малого таза

ИМТ — индекс массы тела

МРТ — магнитно-резонансная томография

НГЭ — наружный генитальный эндометриоз

УЗИ — ультразвуковое исследование

ЭКЯ — эндометриоидная киста яичника

ITGB1 — Integrin beta-1, бета субъединица интегринового рецептора

miR — микроРНК, микроРибонуклеиновая кислота

Nrf2 — Nuclear factor erythroid 2-related factor, редокс-чувствительный транскрипционный фактор

VEGF — vascular endothelial growth factor, фактор роста эндотелия сосудов



**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Анализ распространённости экстрагенитальной патологии у инфертильных женщин с наружным генитальным эндометриозом / С. В. Зотов, П. Ю. Мотырева, А. В. Волчек [и др.] // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2022. – Т. 7, № 2. – С. 24-33.
2. Артымук, Н. В. Эндометриоз-ассоциированное бесплодие. Клинико-анамнестические особенности / Н. В. Артымук, Л. Н. Данилова, О. А. Тачкова // Доктор.Ру. – 2022. – Т. 21. – № 1. – С. 34-38.
3. Ахмедова, С.Р. Репродуктивные прогнозы при лечении бесплодия у женщин с эндометриозом: 14.01.01 / дисс. ... канд. мед. наук. // Ахмедова Саида Рафиковна. — М., 2021. — 103 с.
4. Возможности дифференциальной диагностики рака желудка и предраковых изменений слизистой желудка с помощью анализа экспрессии шести микроРНК / С. Е. Титов, В. В. Анищенко, Т. Л. Полоз [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 131-136.
5. Болотова, Е. В. Частота и особенности железодефицитных состояний у женщин репродуктивного возраста / Е.В. Болотова, А.В. Дудникова, В.А. Крутова // Клиническая медицина. – 2020. – Т. 98. – № 4. – С. 287–293.
6. Клиническая характеристика пациенток с наружным генитальным эндометриозом / Ю. С. Тимофеева, А. В. Волчек, В. М. Кулешов [и др.] // Сибирский медицинский вестник. – 2021. – № 2. – С. 3–8.
7. Клинические рекомендации "Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация" (письмо министерства здравоохранения РФ от 22.11.2013 г. №15–4/10/2-8710).
8. Красильникова, А. К. Факторы риска и клинико-анамнестические особенности у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в современных условиях / А. К. Красильникова, А. М. Герасимов, Л. Х. Абдуллаева // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2022. – № 6. – С. 23–28.

9. Леонов, В.П. Логистическая регрессия в медицине и биологии [Электронный ресурс] / В.П. Леонов. — Режим доступа: [http://www.biometrica.tomsk.ru/logit\\_1.htm](http://www.biometrica.tomsk.ru/logit_1.htm).

10. Поиск новых микроРНК-маркеров для дифференциальной диагностики глиом головного мозга различной степени злокачественности / Е. В. Ступак, С. Е. Титов, Ю. А. Веряскина [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. — 2018. — Т. 38, № 6. — С. 85-93.

11. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 1 ноября 2012 г. № 572н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»".

12. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 24 апреля 2018 г. N 186 «Об утверждении Концепции предиктивной, превентивной и персонализированной медицины».

13. Профилирование микроРНК и мРНК в тканях эутопического и эктопического эндометрия при эндометриоидных кистах яичников / Филиппова Е.С., Межлумова Н.А., Гамисония А.М. [и др.]. // Проблемы репродукции. — 2019. — № 25(2). — С. 27–45.

14. Украинец, Р.В. Влияние эндометриоидной гетеротопии на показатели красной крови // Украинец Р.В., Корнева Ю.С. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2020. — №7. — С. 424–427.

15. Факторы риска развития рецидива наружного генитального эндометриоза после оперативного лечения: проспективное когортное исследование / А. В. Борисова, А. В. Козаченко, В. Е. Франкевич [и др.] // Медицинский совет. — 2018. — № 7. — С. 32–38.

16. Хирургическое лечение наружного генитального эндометриоза как фактор риска снижения репродуктивного потенциала молодых женщин (по материалам гинекологического стационара) / Хамошина М.Б., Абитова М.З., Оразов М.Р. [и соавт.] // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. 2020. — Т. 8. — № 3. Приложение. — С. 55–60.

17. Частота встречаемости и структура наружного генитального эндометриоза у госпитализированных больных / А.М. Герасимов, А.И. Малышкина, М. В. Кулигина [и др.] // Гинекология. — 2021. — Т. 23, № 2. — С. 184–189.
18. Червов, В.О. Факторы риска наружного генитального эндометриоза / В.О. Червов, Н.В. Артымук, Л.Н. Данилова // Acta Biomedica Scientifica. — 2018. — № 3(3). — С. 54–58.
19. Чернуха, Г.Е. Коморбидность эндометриоза и ее клиническое значение / Чернуха Г.Е., Пронина В.А. // Акушерство и гинекология. — 2023. — № 1. — С. 27–34.
20. A delicate redox balance between iron and heme oxygenase-1 as an essential biological feature of endometriosis / Imanaka S., Yamada Y., Kawahara N., Kobayashi H. // Arch. Med. Res. — 2021. — Vol. 52(6). — P. 641-647.
21. A prospective cohort study of endometriosis and subsequent risk of infertility / J. Prescott, L.V. Farland, D.K. Tobias [et al.] // Human Reproduction. — 2016. — Vol. 31. — Iss. 7. — P. 1475–1482.
22. A prospective study of endometriosis and risk of benign breast disease / Farland L.V., Tamimi R.M., Eliassen A.H. [et al.] // Breast Cancer Res. Treat. — 2016. — Vol. 159(3). — P. 545-552.
23. Accurate diagnosis of endometriosis using serum microRNAs. Moustafa S, Burn M., Mamillapalli R., Nematian S. [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. — 2020. — Vol. 223(4). — Iss. 557. — e1-557.e11.
24. Adhesion prevention after endometriosis surgery - results of a randomized, controlled clinical trial with second-look laparoscopy / Krämer B., Andress J., Neis F. [et al.] // Langenbecks Arch Surg. — 2021. — Vol. 406(6). — P. 2133-2143.
25. Adhesion prevention in endometriosis: a neglected critical challenge / Somigliana E., Vigano P., Benaglia L. [et al.] // J. Minim. Invasive Gynecol. — 2012. — Vol. 19(4). — P. 415-421.

26. Adiposity and endometriosis severity and typology / Byun J., Peterson C.M., Backonja U. [et al.] // *J. Minim. Invasive Gynecol.* — 2020. — Vol. 27(7). — P. 1516-1523.
27. Advances in Imaging for Assessing Pelvic Endometriosis / Guerriero S., Ajossa S., Pagliuca M. [et al.] // *Diagnostics (Basel)*. — 2022.— Vol. 26.— Iss. 12(12). — P. 2960.
28. American College of Obstetricians and Gynecologists committee on gynecologic practice and practice committee. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589 / *Fertil. Steril.* — 2014. — Vol. 101(3). — P. 633-634.
29. An overview on the relationship between endometriosis and infertility: The impact on sexuality and psychological well-being / La Rosa V.L., Barra F., Chiofalo B. [et al.] // *J. Psychosom. Obstet. Gynaecol.* — 2020. — Vol. 41. — P. 93–97.
30. Analysis of serum microRNA profile by solexa sequencing in women with endometriosis / Wang L., Huang W., Ren C. [et al.] / *Reprod Sci.* — 2016. — Vol. 23(10). —P. 1359-70.
31. Application of serum markers in diagnosis and staging of ovarian endometriosis / Tang T, Lai H, Huang X [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* — 2021. — Vol. 47(4). — P. 1441-1450.
32. Association between gynaecological disorders and body mass index in a South African cohort: a retrospective observational study / van Drünick C., de Waard L., Muller C.J.B., Theron G. // *J. Obstet. Gynaecol.* — 2022. — Vol. 42(6). — P. 2420-2425.
33. Association of body mass index with severity of endometriosis in Korean women / Yi K.W., Shin J.H., Park M.S. [et al.] // *International Journal of Gynecology & Obstetrics.* — 2009. — Vol. 105. — P. 39-42.
34. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource, Silver Spring [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791>.
35. Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles / Sedlak T.W., Saleh M., Higginson D.S. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2009. — Vol. 106. — P. 5171–5176.

36. Bilirubin concentration in follicular fluid is increased in infertile females, correlates with decreased antioxidant levels and increased nitric oxide metabolites, and negatively affects outcome measures of in vitro fertilization / Mangione R., Pallisco R., Bilotta G. [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* — 2023. — Vol. 27. — Iss. 24(13). — P. 10707.

37. Biomarkers for the noninvasive diagnosis of endometriosis: state of the art and future perspectives / Anastasiu C.V., Moga M.A., Elena Neculau A. [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* — 2020. — Vol. 4;21(5):1750.

38. Blood tests for prediction of deep endometriosis: A case-control study / Chen Z.Y., Zhang L.F., Zhang Y.Q. [et al.] // *World J. Clin. Cases.* — 2021. — Vol. 16. — Iss. 9(35). — P. 10805-10815.

39. Borgh, M.V. Fertility and infertility: definition and epidemiology / M.V. Borgh, C. Wyns // *Clinical Biochemistry.* — 2018. — Vol. 62. — P. 2-10.

40. Carter, H. Chaddock, Robert, Emmet. Principles and Methods of Statistics / Carter H. // *The ANNALS of the American Academy of Political and Social Science.* — 1925. — Vol. 123(1). — P. 229-229.

41. Catastrophizing and anxiety sensitivity mediate the relationship between persistent pain and emotional eating / Janke EA, Jones E, Hopkins CM. [et al.] // *Appetite.* — 2016. — Vol. 103. — P. 64–71.

42. Caveolin-1 function at the plasma membrane and in intracellular compartments in cancer / Simón L., Campos A., Leyton L., Quest A.F.G. // *Cancer Metastasis Rev.* — 2020. — Vol. 39(2). — P. 435-453.

43. Challenges in uncovering non-invasive biomarkers of endometriosis / Hudson Q.J., Perricos A., Wenzl R., Yotova I. // *Exp. Biol. Med (Maywood).* — 2020. — Vol. 245(5). — P. 437-447.

44. Cho, H.Y. Red blood cell indices as an effective marker for the existence and severity of endometriosis (STROBE) / Cho H.Y., Park S.T., Park S.H. // *Medicine (Baltimore).* — 2022. — Vol. 21. — Iss. 101(42). — e31157.

45. CircATRNL1 promotes epithelial-mesenchymal transition in endometriosis by upregulating Yes-associated protein 1 in vitro / Wang D., Luo Y., Wang G., Yang Q. // *Cell Death. Dis.* — 2020. — Vol. 29. — Iss. 11(7). — P. 594.

46. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection / Mitchell P.S., Parkin R.K., Kroh E.M. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci USA. — 2008. — Vol. 105(30). — P. 10513-8.
47. Circulating microRNAs identified in a genome-wide serum microRNA expression analysis as noninvasive biomarkers for endometriosis / Wang W.T., Zhao Y.N., Han B.W. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2013. — Vol. 98(1). — P. 281-289.
48. Circulating miR-200-family micro-RNAs have altered plasma levels in patients with endometriosis and vary with blood collection time / Rekker K., Saare M., Roost A.M. [et al.] // Fertil. Steril. — 2015. — Vol. 104(4). — P. 938-946.
49. Circulating miR-3613-5p but not miR-125b-5p, miR-199a-3p, and miR-451a are biomarkers of endometriosis / Walasik I., Klicka K., Grzywa T.M. [et al.] // Reprod. Biol. — 2023. — Vol. 21. — Iss. 23(4). — P. 100796.
50. Clinical diagnosis of endometriosis: a call to action / Agarwal S.K., Chapron C., Giudice L.C. [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. — 2019. — Vol. 220(4). — 354.e1-354.e12.
51. Coagulation status in women with endometriosis / Viganò P., Ottolina J., Sarais V. [et al.] // Reprod. Sci. — 2018. — Vol. 25(4). — P. 559-565.
52. Combination of the non-invasive tests for the diagnosis of endometriosis / Nisenblat V, Prentice L, Bossuyt PMM [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. — 2016. — Iss. 7. — CD012281.
53. Combined 17 $\beta$ -estradiol with TCDD promotes M2 polarization of macrophages in the endometriotic milieu with aid of the interaction between endometrial stromal cells and macrophages / Wang Y., Chen H., Wang N. [et al.] // PLoS One. — 2015. — Vol. 7. — Iss. 10(5). — e0125559.
54. Correlation of CA-125 serum level and clinico-pathological characteristic of patients with endometriosis / Karimi-Zarchi M., Dehshiri-Zadeh N., Sekhavat L., Nosouhi F. // Int. J. Reprod. Biomed. — 2016. — Vol. 14(11). — P. 713-718.
55. Correlation of preoperative biomarkers with severity of adhesion in endometriosis / Lee Y., Lee Y., Lee S. [et al.] // J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod. — 2020. — Vol. 49(1). — P. 101637.

56. Could hematologic parameters be useful biomarkers for the diagnosis of endometriosis? Turgut A., Hocaoglu M., Ozdamar O. [et al.] // Bratisl. Lek. Listy. — 2019. — Vol. 120(12). — P. 912-918.

57. Deep endometriosis conundrum: evidence in favor of a peritoneal origin / Vercellini P., Aimi G., Panazza S. [et al.] // Fertil. Steril. — 2000. — Vol. 73. — P. 1043-1046.

58. Diagnostic potential of differentially regulated microRNAs among endometriosis, endometrioid ovarian cancer, and endometrial cancer / Kumari P., Sharma I., Saha S.C. [et al.] // J. Cancer Res. Ther. — 2021. — Vol. 17(4). — P. 1003-1011.

59. Diagnostic value of the combination of circulating serum miRNAs and CA125 in endometriosis / Chen G., Guo J., Li W. [et al.] // Medicine (Baltimore). — 2023. — Vol. 102(48). — P. e36339.

60. Differential expression of microRNAs between eutopic and ectopic endometrium in ovarian endometriosis / Filigheddu N., Gregnanin I., Porporato P.E. [et al.] // J. Biomed. Biotechnol. — 2010. — 369549.

61. Down-regulated MiRNA 29-b as a diagnostic marker in colorectal cancer and its correlation with ETV4 and Cyclin D1 immunohistochemical expression / Mosaad H., Ahmed M.M., Elaidy M.M. [et al.] // Cancer Biomark. — 2023. — Vol. 37(3). — P. 179-189.

62. Downregulation of miR-183 inhibits apoptosis and enhances the invasive potential of endometrial stromal cells in endometriosis / Shi X.Y., Gu L., Chen J. [et al.] // Int. J. Mol. Med. — 2014. — Vol. 33(1). — P. 59-67.

63. Effect of high BMI on endometriosis - a chart review study / Megren Al Beaiji, Lubna Khan, Haitham Magdie Felimban [et al.] // ARC Journal of Public Health and Community Medicine. — 2019. — Vol. 4. — P. 1-5.

64. Effect of microRNA-29b on proliferation, migration, and invasion of endometrial cancer cells / Kong J., He X., Wang Y., Li J. // J. Int. Med. Res. — 2019. — Vol. 47(8). — P. 3803-3817.

65. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (nsaids) and gastroprotective nsaids on the gastrointestinal tract: a narrative review / Sohail R., Mathew M., Patel K.K. [et al.] // *Cureus*. — 2023. — Vol. 3. — Iss. 15(4). — P. e37080.

66. Endometrial-peritoneal interactions during endometriotic lesion establishment / Hull M.L., Escareno C.R., Godsland J.M. [et al.] // *Am. J. Pathol.* — 2008. — Vol. 173(3). — P. 700-715.

67. Endometriomas: their ultrasound characteristics / Van Holsbeke C., Van Calster B., Guerriero S. [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* — 2010. — Vol. 35(6). — P. 730-740.

68. Endometriosis and irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis / Chiaffarino F., Cipriani S., Ricci E. [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* — 2021. — Vol. 303(1). — P. 17-25.

69. Endometriosis and irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analyses / Nabi M.Y., Nauhria S., Reel M. [et al.] // *Front. Med. (Lausanne)*. — 2022. — Vol. 25. — Iss. 9. — 914356.

70. Endometriotic mesenchymal stem cells epigenetic pathogenesis: deregulation of mir-200b, mir-145, and let7b in a functional imbalanced epigenetic disease / Mashayekhi P., Noruzinia M., Zeinali S., Khodaverdi S. // *Cell J.* — 2019. — Vol. 21(2). — P. 179-185.

71. ESHRE guideline: endometriosis / C. M. Becker, A. Bokor, O. Heikinheimo [et al.] // *Human Reproduction Open*. — 2020. — Iss. 2. — hoac009.

72. Evaluating hematological parameters in women with endometriosis / Moini A., Ghanaat M., Hosseini R. [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol.* — 2021. — Vol. 41(7). — P. 1151-1156.

73. Evaluation of adipokines concentrations in plasma, peritoneal, and endometrioma fluids in women operated on for ovarian endometriosis / Wójtowicz M., Zdun D., Owczarek A.J. [et al.] // *Front. Endocrinol (Lausanne)*. — 2023. — Vol. 21. — Iss. 14. — P. 1218980..

74. Evaluation of endometrioma size effect on ovarian reserve, embryo quality and pregnancy outcome after in vitro fertilization cycle; a cross-sectional study /



Zareii A., Askary E., Ghahramani A. [et al.] // BMC Womens Health. — 2023. — Vol. 21. — Iss. 23(1). — P. 327.

75. Expression and Significance of miR-126 and miR-145 in Infertility due to Endometriosis / Cheng F., Lu L., Wang H. [et al.] // J. Coll. Physicians Surg. Pak. — 2019. — Vol. 29(6). — P. 585-587.

76. Expression of miR-126 and Crk in endometriosis: miR-126 may affect the progression of endometriosis by regulating Crk expression / Liu S., Gao S., Wang X.Y. [et al.] // Arch. Gynecol. Obstet. — 2012. — Vol. 285. — P. 1065–1072.

77. Faizi, N. Biostatistics manual for health research. a practical guide to data analysis / Nafis, Yasir Alvi. — Academic Press, 2023. — 290 p.

78. Genome-wide profiling of miRNA expression patterns in tubal endometriosis / Qi H., Liang G., Yu J. [et al.] // Reproduction. — 2019. — Vol. 157(6). — P. 525-534.

79. Global prevalence of irritable bowel syndrome according to Rome III or IV criteria: a systematic review and meta-analysis / Oka P., Parr H., Barberio B. [et al.] // Lancet Gastroenterol. Hepatol. — 2020. — Vol. 5(10). — P. 908-917.

80. Goetz, T.G. Low body mass index in endometriosis is promoted by hepatic metabolic gene dysregulation in mice / Goetz T.G., Mamillapalli R., Taylor H.S. // Biol. Reprod. — 2016. — Vol. 95(6). — P. 115.

81. Guo, C. Platelet-to-lymphocyte ratio and CA125 level as a combined biomarker for diagnosing endometriosis and predicting pelvic adhesion severity / Guo C., Zhang C. // Front. Oncol. — 2022. — Vol. 12:896152.

82. High-throughput sequencing approach uncovers the miRNome of peritoneal endometriotic lesions and adjacent healthy tissues / Saare M., Rekker K., Laisk-Podar T. [et al.] // PLoS One. — 2014. — Vol. 11. — Iss. 9(11). — e112630.

83. Hong, J. What is the link between endometriosis and adiposity? / Hong J., Yi K.W. // Obstet. Gynecol. Sci. — 2022. — Vol. 65(3). — P. 227-233.

84. Horita, M. The role of miR-29 family in disease / Horita M., Farquharson C., Stephen L.A. // J. Cell. Biochem. — 2021. — Vol. 122(7). — P. 696-715.

85. <https://ziwig.com/en/professionals/>

86. Identification of candidate microRNA markers of endometriosis with the use of next-generation sequencing and quantitative real-time polymerase chain reaction / Papari E., Noruzinia M., Kashani L., Foster W.G. // *Fertil. Steril.* — 2020. — Vol. 113(6). — P. 1232-1241.
87. Impact of Endometriosis on Life-Course Potential: A Narrative Review / Missmer S.A., Tu F.F., Agarwal S.K. [et al.] // *Int. J. Gen. Med.* — 2021. — Vol. 7. — Iss. 14. — P. 9-25.
88. Investigating the expressions of miRNA-125b and TP53 in endometriosis. Does it underlie cancer-like features of endometriosis? A case-control study / Hajimaqsoudi E., Darbeheshti F., Kalantar S.M. [et al.] // *Int. J. Reprod. Biomed.* — 2020. — Vol. 18(10). — P. 825-836.
89. Is early age at menarche a risk factor for endometriosis? A systematic review and meta-analysis of case-control studies / K.E. Nnoaham, P. Webster, J. Kumbang [et al.] // *Fertility and Sterility.* — 2012. — Vol. 98. — Iss. 3. — P. 702-712.
90. Itriyeva, K. The effects of obesity on the menstrual cycle / Itriyeva K. // *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* — 2022. — Vol. 52(8). — P. 101241.
91. Jenabi, E. The association between body mass index and the risk of endometriosis: A meta-analysis / Jenabi E., Khazaei S, Veisani Y. // *Journal of endometriosis and pelvic pain disorders.* — 2019. — Vol. 11(2). — P. 55-61.
92. Katon, J.G. Racial disparities in uterine fibroids and endometriosis: a systematic review and application of social, structural, and political context / Katon J.G., Plowden T.C., Marsh E.E. // *Fertil Steril.* — 2023. — Vol. 119(3). — P. 355-363.
93. Kruskal, W.H. Use of ranks in one-criterion variance analysis / Kruskal W.H., Wallis W. A. // *Journal of the American Statistical Association.* — 1952. — Vol. 47. — Iss. 260. — P. 583-621.
94. Leptin stimulates endometriosis development in mouse models / Kim T.H., Bae N., Kim, T. [et al.] // *Biomedicines.* — 2022. — Vol. 10. — P. 2160.
95. Ling, X. Diagnostic and prognostic value of coagulation-related factors in endometriosis / Ling X., Wang T. // *Am. J. Transl. Res.* — 2022. — Vol. 15. — Iss. 14(11). — P. 7924-7931.

96. Livak, K.J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C(T)}$  method / Livak K.J., Schmittgen T.D. // *Methods*. — 2001. — Vol. 25(4). — P. 402-408.

97. Lu, M.Y. The risk of endometriosis by early menarche is recently increased: a meta-analysis of literature published from 2000 to 2020 / Lu M.Y., Niu J.L., Liu B. // *Arch Gynecol. Obstet.* — 2023. — Vol. 307(1). — P. 59-69.

98. Machine Learning Approach to find the relation between endometriosis, benign breast disease, cystitis and non-toxic goiter / Lee J.H., Kwon S.Y., Chang J., Yuk J.S. // *Sci Rep.* — 2019. — Vol. 9(1). — P. 5410.

99. Mann H. B., Whitney D. R. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other // *Ann. Math. Statist.* — 1947. — Vol. 18(1). — P. 50–60.

100. Microarray analysis of microRNA deregulation and angiogenesis-related proteins in endometriosis / Yang R.Q., Teng H., Xu X.H. [et al.] // *Genet. Mol. Res.* — 2016. — Vol. 3. — Iss. 15(2).

101. Microbiota in Irritable Bowel Syndrome and Endometriosis: Birds of a Feather Flock Together-A Review / Salmeri N., Sinagra E., Dolci C. [et al.] // *Microorganisms*. — 2023. — Vol. 15. — Iss. 11(8). — P. 2089.

102. MicroRNA 16 inhibits endometrial stromal cell migration and invasion through suppression of the inhibitor of nuclear factor  $\kappa$ B kinase subunit  $\beta$ /nuclear factor  $\kappa$ B pathway / Wang X., Ren R., Shao M., Lan J. // *Int. J. Mol. Med.* — 2020. — Vol. 46(2). — P. 740-750.

103. MicroRNA 21 5p promotes epithelial to mesenchymal transition by targeting SRY box 17 in endometrial cancer" / Wang, C., Li, Q., He, Y. // *Oncology Reports*. — 2020. — Vol. 43.6. — P. 1897-1905.

104. MicroRNA-29b inhibits angiogenesis by targeting VEGFA through the MAPK/ERK and PI3K/Akt signaling pathways in endometrial carcinoma / Hong-Xia Chen, Xiao-Xia Xu, Bu-Zhen Tan [et al.] // *Cellular Physiology and Biochemistry*. — 2017. — Vol. 41 (3). — P. 933–946.

105. MicroRNA expression pattern differs depending on endometriosis lesion type / Haikalis M.E., Wessels J.M., Leyland N.A. [et al.] // *Biol. Reprod.* — 2018. — Vol. 98(5). — P. 623-633.

106. MicroRNA-126-5p downregulates BCAR3 expression to promote cell migration and invasion in endometriosis / Meng X, Liu J, Wang H. [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* — 2019. — Vol. 20. — Iss. 494. — P. 110486.

107. MicroRNA-15a-5p inhibits endometrial carcinoma proliferation, invasion and migration via downregulation of VEGFA and inhibition of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway / Wang H., Yang Q., Li J. [et al.] // *Oncol. Lett.* — 2021. — Vol. 21(4). — P. 310.

108. MicroRNA-183 in cancer progression / Cao D., Di M., Liang J. [et al.] // *J. Cancer.* — 2020. — Vol. 11(6). — P. 1315-1324.

109. MicroRNA-regulated pathways associated with endometriosis / Ohlsson Teague E.M., Van der Hoek K.H., Van der Hoek M.B. [et al.] // *Mol. Endocrinol.* — 2009. — Vol. 23(2). — P. 265-275.

110. MicroRNAs expression in endometriosis and their relation to angiogenic factors / Ramón L.A., Braza-Boïls A., Gilabert-Estellés J. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2011. — Vol. 26(5). — P. 1082-1090.

111. MicroRNome analysis generates a blood-based signature for endometriosis / Bendifallah S., Dabi Y., Suisse S. [et al.] // *Sci. Rep.* — 2022. — Vol. 12(1). — P. 4051.

112. MiR-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1 / Harris T.A., Yamakuchi M., Ferlito M. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2008. — Vol. 105(5). — P. 1516–1521.

113. MiR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2 // Cimmino A., Calin G.A., Fabbri M. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2005. — Vol. 102. — P. 13944–13949.

114. MiR-183 regulates ITGB1P expression and promotes invasion of endometrial stromal cells / Chen J., Gu L., Ni J. [et al.] // *Biomed. Res. Int.* — 2015. — 340218.

115. MiR-200a ameliorates peritoneal fibrosis and functional deterioration in a rat model of peritoneal dialysis / Wei X., Bao Y., Zhan X. [et al.] // *Int. Urol. Nephrol.* — 2019. — Vol. 51(5). — P. 889-896.

116. MiR-20a contributes to endometriosis by regulating NTN4 expression / Zhao M., Tang Q., Wu W. [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* — 2014. — Vol. 41(9). — P. 5793-7.

117. MiR-29b enhances prostate cancer cell invasion independently of MMP-2 expression / Ivanovic R.F., Viana N.I., Morais D.R. [et al.] // *Cancer Cell. Int.* — 2018. — Vol. 5;18. — P. 18.

118. MiR-29b inhibits non-small cell lung cancer progression by targeting STRN4 / Xie Y., Zhao F., Zhang P. [et al.] // *Hum. Cell.* — 2020. — Vol. 33(1). — P. 220-231.

119. miR-29b negatively regulates MMP2 to impact gastric cancer development by suppress gastric cancer cell migration and tumor growth / Wang T., Hou J., Jian S. [et al.] // *J. Cancer.* — 2018. — Vol. 1. — Iss. 9(20). — P. 3776-3786.

120. MiR-29b regulates TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal transition by inhibiting heat shock protein 47 expression in airway epithelial cells / Shin J.M., Park J.H., Yang H.W. [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* — 2021. — Vol. 26;22(21). — P. 11535.

121. miR-29c is downregulated in the ectopic endometrium and exerts its effects on endometrial cell proliferation, apoptosis and invasion by targeting c-Jun / Long M., Wan X., La X. [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* — 2015. — Vol. 35(4). — P. 1119-1125.

122. MiR-31 and miR-145 as potential non-invasive regulatory biomarkers in patients with endometriosis / Bashti O., Noruzinia M., Garshasbi M., Abtahi M. // *Cell J.* 2018. — Vol. 20(1). — P. 84-9.

123. Modifiable life style factors and risk for incident endometriosis / Hemmert R., Schliep K.C., Willis S. [et al.] // *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* — 2019. — Jan;33(1):19-25.

124. Nie, X. Correlation between miR-222 and uterine cancer and its prognostic value / Nie X, Tian H. // *Oncol. Lett.* — 2018. — Vol. 16(2). — P. 1722-1726.

125. Non-coding RNAs in endometriosis: a narrative review / K. Panir, J.E. Schjenken, S.A. Robertson, M.L. Hull // *Human Reproduction Update*. — 2018. — Vol. 24. — Iss. 4. — P. 497–515.

126. Overview of miRNAs for the non-invasive diagnosis of endometriosis: evidence, challenges and strategies. A systematic review / Monnaka V.U., Hernandez C., Heller D., Podgaec S. // *Einstein (Sao Paulo)*. — 2021. — Vol. 19. — eRW5704.

127. Pantelis, A. The formidable yet unresolved interplay between endometriosis and obesity / Pantelis A., Machairiotis N., Lapatsanis D. // *The Scientific World Journal*. — 2021. — Vol. 1-10.

128. Peritoneal immune microenvironment of endometriosis: Role and therapeutic perspectives / Chen S., Liu Y., Zhong Z. [et al.] // *Front. Immunol.* — 2023. — Vol. 14.— P. 1134663.

129. Pirdel, L. Role of iron overload-induced macrophage apoptosis in the pathogenesis of peritoneal endometriosis / Pirdel L, Pirdel M. // *Reproduction*. — 2014. — Vol. 147. — P. 199–207.

130. Plasma microRNAs as novel biomarkers for endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer / Suryawanshi S., Vlad A.M., Lin H.M. [et al.] // *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. — 2013. — Vol. 19(5). — P. 1213–1224.

131. Plasma miR-17-5p, miR-20a and miR-22 are down-regulated in women with endometriosis / Jia S.Z., Yang Y., Lang J. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2013. — Vol. 28. — P. 322-30.

132. Plasma miRNAs as biomarkers for endometriosis / Vanhie A., Peterse D., Beckers A. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2019. — Vol. 29;34(9). — P. 1650-1660.

133. PrimerQuest™ Tool [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://eu.idtdna.com>.

134. Quantitation of microRNAs by real-time RT-qPCR / Chen C., Tan R., Wong L. [et al.] // *Methods Mol. Biol.* — 2011. — Vol. 687. — P. 113-34.

135. Reproductive health indicators: guidelines for their generation, interpretation and analysis for global monitoring. World Health Organization [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43185>
136. Research progress of CA125 in endometriosis: Teaching an old dog new tricks / Chen Y., Pan M., Zuo Y. [et al.] // *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine*. — 2022. — Vol.2. — Iss. 4. — P. 191-198.
137. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. — *Fertil Steril*. — 1997. — Vol. 67(5). — P. 817-21.
138. Risk for and consequences of endometriosis: A critical epidemiologic review / A.L. Shafrir, L.V. Farland, D.K. Shah [et al.] // *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. — Vol. 51. — 2018. — P. 1–15.
139. Role of erythropoietin and its receptor in the development of endometriosis in rats / Günal M.Y., Ozansoy M., Kılıç Ü. [et al.] // *J. Turk. Ger. Gynecol. Assoc.* — 2019. — Vol. 26. — Iss. 20(1). — P. 41-46.
140. Role of miR-221/222 in Tumor Development and the Underlying Mechanism / Song Q., An Q., Niu B. [et al.] // *J. Oncol.* — 2019. — Vol. 24. — P. 7252013.
141. Role of serum microRNAs as biomarkers for endometriosis, endometrioid carcinoma of ovary & endometrioid endometrial cancer / Kumari P., Sharma I., Saha S.C. [et al.] // *Indian J. Med. Res.* — 2022. — Vol. 156(3). — P. 516-523.
142. Saidi, K.A systematic review and meta-analysis of the associations between endometriosis and irritable bowel syndrome / Saidi K., Sharma S., Ohlsson B. // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* — 2020. — Vol. 246. — P. 99-105.
143. Salivary MicroRNA signature for diagnosis of endometriosis / Bendifallah S., Suisse S., Puchar A. [et al.] // *J. Clin. Med.* — 2022. — Vol. 26. — Iss. 11(3). — P. 612.
144. Sampson, J.A. Metastatic or embolic endometriosis, due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the venous circulation / Sampson J.A. // *Am. J. Pathol.* — 1927. — Vol. 3. — P. 93–110.

145. Serum exosomal miRNA from endometriosis patients correlates with disease severity / Wu Y., Yuan W., Ding H., Wu X. // *Arch. Gynecol. Obstet.* — 2022. — Vol. 305(1). — P. 117-127.
146. Serum microRNAs as diagnostic markers of endometriosis: a comprehensive array-based analysis / Cosar E., Mamillapalli R., Ersoy G.S. [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2016. — Vol. 106(2). — 402-9.
147. Shining a light on endometriosis: time to listen and take action / *BMC Med.* — 2023. — Vol. 21(1). — P. 107.
148. Spatiotemporal trends and age-period-cohort analysis for the burden of endometriosis-related infertility: an analysis of the global burden of disease study 2019. Liu J., Han W., Wang H. [et al.] // *J. Pers. Med.* — 2023. — Vol. 22. — Iss. 13(9). — Vol. 1284.
149. Systemic inflammation induced by microRNAs: endometriosis-derived alterations in circulating microRNA 125b-5p and Let-7b-5p regulate macrophage cytokine production / Nematian S.E., Mamillapalli R., Kadakia T.S. [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2018. — Vol. 1. — Iss. 103(1). — P. 64-74.
150. Tas, M. The value of the neutrophil to lymphocyte ratio, platelet to lymphocyte ratio and ca-125 in differential diagnosis of ovarian endometriosis / Tas M. // *Medicine.* — 2019. — Vol. 8. — P. 782–785.
151. The association of body mass index with endometriosis and disease severity in women with pain / Holdsworth-Carson S.J., Dior U.P., Colgrave E.M. [et al.] // *J. Endometr. Pelvic Pain Disord.* — 2018. — Vol. 10. — P. 79–87.
152. The Expression of TGF- $\beta$ 1, SMAD3, ILK and miRNA-21 in the Ectopic and Eutopic Endometrium of Women with Endometriosis / Zubrzycka A., Migdalska-Sęk M., Jędrzejczyk S., Brzezińska-Lasota E. // *Int. J. Mol. Sci.* — 2023. — Vol. 24. — P. 2453.
153. The miRNA mirage: how close are we to finding a non-invasive diagnostic biomarker in endometriosis? A Systematic Review. // Agrawal S., Tapmeier T., Rahmioglu N. [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* — 2018. — Vol. 17;19(2). — P. 599.



154. The role of microRNAs in endometriosis and associated reproductive conditions / E. Maria, C. Ohlsson Teague, Cristin G. Print [et al.] // *Human Reproduction Update*. — 2010. — Vol. 16. — Iss. 2. — 142–165 pp.

155. The Role of miRNAs in the Development, Proliferation, and Progression of Endometrial Cancer / Bogaczyk A., Zawlik I., Zuzak T. [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2023 — Vol. 24(14). — P. 11489

156. The role of small extracellular vesicle-miRNAs in endometriosis / Nazri H.M., Greaves E., Quenby S. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2023. — dead216.

157. Timing, delays and pathways to diagnosis of endometriosis: a scoping review protocol / Cromeens M.G., Carey E.T., Robinson W.R. [et al.] // *BMJ Open*. — 2021. — Vol. 11. — e049390.

158. TNF $\alpha$ -induced altered miRNA expression links to NF- $\kappa$ B signaling pathway in endometriosis / Banerjee S., Xu W., Doctor A. [et al.] // *Res. Sq. [Preprint]*. — 2023. — rs.3.rs-2870585.

159. Vaghar, M.I. Evaluation of lifestyle and endometriosis in infertile women referring to the selected hospital of Tehran University Medical Sciences / Vaghar M.I. // *J Family Med Prim Care*. — 2019. — Vol. 15. — Iss. 8(11). — P. 3574-3577.

160. Vahiddastjerdi, M. An evaluation of the effect of lifestyle on the incidence of endometriosis / Vahiddastjerdi M., Vaghar M.E., Manesh A.H. / *Maedica (Bucur)*. — 2023.— Vol. 18(3). — P. 432-436.

161. Wang, L. Methylation of the miR 29b 3p promoter contributes to angiogenesis, invasion, and migration in pancreatic cancer / Wang L., Mu N., Qu N. // *Oncol. Rep.* — 2021. — Vol. 45(1). —P. 65-72.

162. Wehling, M. Biomarkers / M. Wehling // *Principles of Translational Science in Medicine*. — Academic Press, 2021. — P. 135-165.

163. What's the delay? A qualitative study of women's experiences of reaching a diagnosis of endometriosis / Ballard K., Lowton K., Wright J. [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2006. — Vol. 86. — P. 1296-301.

164. WHO Global Anaemia estimates, 2021 Edition [Электронный ресурс]. — Режим доступа: [https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/anaemia\\_in\\_women\\_and\\_children](https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/anaemia_in_women_and_children)
165. Youden, W.J. Index for rating diagnostic tests / Youden W.J. // Cancer. — 1950. — Vol. 3(1). — P. 32-5.
166. Yovich, J. L. The history of endometriosis preceding Sampson / Yovich J. L. // Med. J. Obstet. Gynecol. — 2020. — Vol. 8(1). — P. 1131.
167. Zhao, K Noninvasive evaluation of ovarian endometriosis: a single-center experience / Zhao K., Qu P. // Ann. Palliat Med — 2021. — Vol. 10(4). — P. 4728-4735.
168. Zheng, L. Exosomal miR-202 derived from leukorrhea as a potential biomarker for endometriosis / Zheng L., Sun D.F., Tong Y. // J. Int. Med. Res. — 2023. — Vol. 51(1). — 3000605221147183.
169. Zondervan, K. Endometriosis / Zondervan K., Becker C., Missmer S. // N. Engl. J. Med. — 2020. — Vol. 382. — P. 1244–1256.
170. Zwicky, S.N. Sterile Injury Repair and Adhesion Formation at Serosal Surfaces / Zwicky S.N., Stroka D., Zindel J. // Front. Immunol. — 2021. — Vol. 14. — Iss. 12. — P. 684967.