

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
АКУШЕРСТВА И ПЕДИАТРИИ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

Томай Людмила Руслановна

**ЗНАЧЕНИЕ МОДИФИКАЦИИ ПРОТЕИНОВОГО ПРОФИЛЯ
СЫВОРОТКИ КРОВИ И ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В
ПАТОГЕНЕЗЕ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА И
ДИАГНОСТИКЕ ЕГО СТАДИЙ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
д.м.н., проф. Линде В.А.

Ростов-на-Дону
2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	12
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Современные представления о наружном генитальном эндометриозе	12
1.2. Протеомный анализ и его значение для диагностики эндометриоза	21
1.3. Белковый спектр перитонеальной жидкости и клеточные регуляторы в патогенезе наружного генитального эндометриоза.....	24
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1. Общая характеристика обследованных пациенток	31
2.2. Методы исследования.....	33
2.2.1. Клиническое обследование пациенток.....	33
2.2.2. Клинико-лабораторное обследование	34
2.2.3. Гистологическое исследование	38
2.2.4. Биохимические методы исследования.....	38
2.3. Статистическая обработка данных.....	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	43
3.1. Клиническая характеристика обследованных пациенток.....	43
3.2. Протеомный анализ перитонеальной жидкости при наружном генитальном эндометриозе.....	57
3.3. Определение содержания в сыворотке крови и перитонеальной жидкости белков отличия, обнаруженных при наружном генитальном эндометриозе.....	67
3.4. Содержание клеточных регуляторов в перитонеальной жидкости и сыворотке крови при наружном генитальном эндометриозе	74
3.5. Корреляционный анализ и «Деревья решений».....	80
3.6. Логистическая регрессия и ROC-анализ.....	95
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	106
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	123
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	151

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Проблема эндометриоза является одной из центральных в гинекологии наряду с воспалительными заболеваниями органов малого таза и миомой матки (Баскаков В.П. и соавт., 2002; Адамян Л.В. и соавт., 2011). Частота эндометриоза не имеет тенденции к снижению и в настоящее время достигает 10% в популяции (Guidice L.N., 2010). Прогрессирующее течение заболевания приводит к возникновению болевого синдрома, нарушениям менструального цикла, бесплодия, психо-эмоциональным сдвигам, и, как следствие, снижению качества жизни пациенток (Кира Е. Ф., Рябцева М. В, 2008).

На сегодняшний день «золотым стандартом» для диагностики эндометриоза является визуальный осмотр малого таза при лапароскопии, дополненный гистологическим исследованием (Kennedy S. et al., 2005). Однако лапароскопия – хирургическая процедура с возможным риском редких, но серьезных осложнений для пациенток (Slack A. et al., 2007). Из-за отсутствия неинвазивных и полуинвазивных методов диагностики задержка хирургического подтверждения эндометриоза от начала болевого синдрома может составлять в Британии и США до 8 лет (Sinaii N. et al., 2008). В связи с этим необходимость поиска новых высокоинформативных биомаркеров для неинвазивной диагностики эндометриоза стала приоритетным направлением исследований в этой области.

Существенный прогресс в поиске специфических маркеров патологических процессов стал возможен благодаря разработке и внедрению в биомедицинские исследования протеомных технологий (Говорун В.М., Арчаков А.И., 2002; Арчаков А.И., 2004). Протеомика позволяет оценить совокупность белков исследуемого объекта (протеом) и своевременно выявить изменения в их экспрессии. Изучение протеомной динамики, очевидно, является необходимым условием для понимания молекулярных механизмов, приводящих к

формированию и развитию эндометриоза (Barbosa E.V. et al., 2012; Upadhyay R.D. et al., 2013).

Протеомный анализ представляет собой системный подход, ориентированный на одномоментное параллельное изучение многих индивидуальных белков, что позволяет получать интегральное представление о состоянии метаболических процессов в организме. Основной задачей протеомного анализа является идентификация определенных белков или их комбинаций, которые присутствуют или отсутствуют в протеоме изучаемого объекта (Сарвилина И.В. и соавт., 2007; Сучков С.В. и соавт., 2013).

Состояние генеративного аппарата женщины находит отражение в составе перитонеальной жидкости, реагирующей на все происходящие нарушения в его структурах (Koninckx P.R. et al., 1999; Bedaiwy M.A., Falcone T., 2003). Клеточно-молекулярные изменения в перитонеальной жидкости являются не только диагностическими критериями этого заболевания, но и одновременно показателями состояния эффекторного звена регуляции функций половой системы, наиболее информативными из которых являются отклонения в белковом спектре перитонеальной жидкости. Однако в настоящее время сведения о качественном и количественном составе белков перитонеальной жидкости весьма ограничены, а используемые в клинической практике методы их определения недостаточно специфичны. В связи с этим протеомный анализ перитонеальной жидкости будет способствовать совершенствованию методов прогнозирования и ранней диагностики развития эндометриоза.

Брюшная полость не является нейтральной средой и в ответ на внедрение гетеротопичных клеток возникает местная реакция брюшины, которая носит преимущественно неспецифический воспалительный характер. Большое влияние на эти процессы оказывают ростовые факторы и факторы воспаления в перитонеальной жидкости. Вокруг гетеротопий обнаружено достоверное увеличение числа тканевых базофилов, которые, наряду с синтезом ростовых ангиогенных факторов, вырабатывают и различные провоспалительные факторы. (Алиханова З.М., 1991). Они являются регуляторами процессов ангиогенеза,

апоптоза, пролиферации и дифференцировки клеток в эндометрии (Koninckx, P.R. et al., 1999; Groothuis P.G. et al., 2005; Laschke M.W. et al., 2007).

Согласно модели воспалительного ангиогенеза, существует паракринный обмен факторами роста и способствующими выживанию факторами между колонией опухолевых клеток и близлежащими сосудистыми эндотелиальными клетками, которые способны секретировать около 20 митогенов и антиапоптотических факторов (Rak J. et al., 1995). Роль митогена играет сосудистый эндотелиальный фактор роста (СЭФР). Он оказывает влияние на продуцирование эндотелиальными клеткам протеаз, дилатацию и увеличение проницаемости микрососудов. Эти процессы способствуют улучшению питания колонии эндометриальных клеток еще до начала образования новых сосудов; регулируют элонгацию, митозы и миграцию эндотелиальных клеток. (Folkman J., 2002).

Одним из крупнейших достижений последних лет явилось обнаружение целостной системы – FAS-рецептор, его лиганд FASL и их растворимые формы sFAS и sFASL, функция которой заключается в отслеживании разнообразных повреждений, экстренном удалении поврежденных или опасных для организма клеток. Нормальное функционирование этой системы поддерживает гомеостаз во многих системах организма, а при нарушении ее функций развиваются многочисленные заболевания (Ермолова Н.В., 2009; Songye X.. et al., 2004).

Цель исследования – выявить новые молекулярные аспекты патогенеза наружного генитального эндометриоза (НГЭ) у женщин репродуктивного возраста, на основании чего оптимизировать диагностику эндометриоза и его стадий.

Задачи исследования:

1. Выявить клинические и анамнестические особенности НГЭ у пациенток репродуктивного возраста.
2. На основании качественного протеомного анализа охарактеризовать протеом перитонеальной жидкости пациенток с НГЭ, выявить белки отличия и

установить особенности их содержания в сыворотке крови и перитонеальной жидкости в зависимости от стадии заболевания.

3. Выявить особенности содержания в сыворотке крови и перитонеальной жидкости sFASL, СЭФР, СЭФР-R1 в зависимости от стадии эндометриоза.

4. Установить корреляционные взаимосвязи между изучаемыми показателями протеома и регуляторами ангиогенеза и апоптоза у пациенток репродуктивного возраста с НГЭ.

5. Разработать критерии диагностики НГЭ и его стадий у пациенток репродуктивного возраста с использованием математического анализа по методу оценки 3D-графической прогностической поверхности, «деревьев решений», логистической регрессии и ROC-анализа.

Научная новизна работы

- На основании протеомного анализа перитонеальной жидкости получены новые данные об особенностях ее белкового спектра у пациенток с НГЭ, заключающиеся в отсутствии фактора дифференцировки пигментного эпителия, ингибитора апоптоза b, гаптоглобина, транстиретина, α -1-антитрипсина и появлении новых белков – Апо-AIV, ГСПГ, С3 и С4b.

- Выявлены нарушения в регуляции апоптоза при эндометриозе, проявляющиеся в снижении уровня sFASL в сыворотке крови при эндометриозе I-II стадии и в перитонеальной жидкости – при III-IV стадии заболевания.

- Установлены корреляционные взаимосвязи между содержанием в сыворотке крови и перитонеальной жидкости выявленных белков отличия и уровнем факторов, которые регулируют ангиогенез и апоптоз, проявляющиеся наличием отрицательных связей между уровнем sFASL и С4-b и положительных связей между Апо-AIV и СЭФР-R1, sFASL и СЭФР, С3 и С4-b.

- Впервые выявлены изменения содержания идентифицированных белков отличия в сыворотке крови и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом, заключающиеся в повышении уровня ГСПГ и Апо-AIV.

- Впервые выявлена взаимосвязь между содержанием белков отличия в сыворотке крови и стадиями эндометриоза: ранние стадии эндометриоза

ассоциируются с повышенным содержанием Апо-АIV, ГСПГ, С3 и сниженным – sFASL, распространенные стадии эндометриоза – с увеличением уровня Апо-АIV, ГСПГ и С3.

Теоретическое и практическое значение работы

- проведенное исследование имеет большое значение для понимания молекулярных механизмов развития эндометриоза и углубляет представления об особенностях изменения протеома у пациенток с различными стадиями НГЭ;
- результаты работы свидетельствуют о том, что выявленная модификация продукции белков может быть иницирующим фактором в сложной цепи метаболических нарушений, приводящих к формированию и прогрессированию НГЭ;
- полученные данные позволили предложить один из механизмов бесплодия при эндометриозе;
- установлены определенные закономерности, лежащие в основе нарушений клеточной регуляции, которые реализуются в процессе апоптоза при НГЭ;
- выявленные особенности протеомных и метаболомных изменений на системном и местном уровнях позволили статистически обосновать и предложить для использования в практическом здравоохранении новые способы неинвазивной диагностики НГЭ и его стадий;
- по результатам исследования разработаны информативные способы диагностики НГЭ и его ранних стадий (патент № 2526823 от 05.08.13 и патент № 2571291 от 15.08.2014).

Положения, выносимые на защиту

1. Для формирования и прогрессирования НГЭ характерно изменение спектра протеома перитонеальной жидкости, заключающееся в отсутствии 5 и появлении 4 дополнительных белков, не обнаруженных у пациенток без эндометриоза. Идентифицированные белки отличия выполняют важные функции

в регуляции действия гормонов, редокс-процессов, апоптоза, ангиогенеза, воспаления и иммунного ответа.

2. Формирование и течение НГЭ сопровождается изменениями в белковом профиле и содержании клеточных регуляторов апоптоза и ангиогенеза СЭФР и sFASL как в перитонеальной жидкости, так и в сыворотке крови.

3. Модификация протеомного спектра и содержания клеточных регуляторов при изученной патологии, наряду с негативными последствиями, лежит в основе компенсаторных реакций, препятствующих росту гетеротопий и формированию спаечного процесса.

4. Применение современных высокоинформативных технологий протеомного анализа с целью выявления изменений в белковых профилях, связанных с эндометриозом, дает возможность определить наиболее специфические маркеры заболевания и использовать их для оптимизации диагностики заболевания.

Внедрение результатов работы в практику

Полученные результаты внедрены в практику работы гинекологического отделения ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России, гинекологического отделения НУЗ "Дорожная клиническая больница на ст. Ростов-Главный ОАО "РЖД" г. Ростова-на-Дону. Материалы диссертации используются в лекциях и семинарах по повышению квалификации врачей ЮФО и СКФО, а также при проведении занятий с клиническими ординаторами и аспирантами ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России.

Степень достоверности результатов проведенных исследования

Степень достоверности научных положений и выводов подтверждается проработкой литературных источников по теме диссертации, достаточным объемом выборок исследования, современными методами диагностики и статистической обработкой результатов.

Для получения объективных выводов и выявления закономерностей изучаемых явлений выполнена статистическая обработка данных с помощью пакета программ Statistica 10.0.

Комиссия по проверке первичной документации сделала заключение о том, что все материалы диссертации получены лично автором. Достоверность и подлинность первичной документации диссертации не вызывает сомнений; текст диссертации также написан лично Томай Людмилой Руслановной.

Методология и методы диссертационного исследования

Методология диссертационной работы основана на изучении литературных данных по клиническому значению протеомных изменений на местном и системном уровнях у пациенток репродуктивного возраста с НГЭ, оценке степени разработанности и актуальности темы. Учитывая поставленную цель, разработан план выполнения этапов диссертационной работы, выбраны объекты исследования и подобран комплекс методов исследования. Объектами исследования стали пациентки репродуктивного возраста, предъявляющие жалобы на боль и/или бесплодие с верифицированным НГЭ различных стадий (по итогам лапароскопии и гистологического исследования), а также женщины без эндометриоза. При обследовании пациенток использовался комплекс клинических, иммунохимических и молекулярных методов исследования. Математическая обработка результатов исследования проводилась с использованием современных компьютерных программ прикладного статистического анализа.

Апробация работы

Материалы диссертации были представлены на: ученом совете и проблемной комиссии ФГБУ «Ростовский НИИ акушерства и педиатрии» Минздрава России, VII, VIII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2013, 2014), XIV, XV, XVI Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2013, 2014, 2015), VII Региональном научном форуме

«Мать и дитя» (Геленджик, 2014), 6-м, 7-м Международном научном конгрессе «Оперативная гинекология – новые технологии» (Санкт-Петербург, 2012, 2014), 4th Nordic Congress on Endometriosis (Turku, Finland, 2013), VI Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2013), Международном медицинском форуме «Репродуктивное здоровье: проблемы, пути, решения и достижения» (Судак, 2014), Региональной научно-практической конференции «Приоритетные задачи охраны репродуктивного здоровья и пути их решения» (Ростов-на-Дону, 2013, 2014), American Society for Reproductive Medicine Annual Meeting (Honolulu, Hawaii, 2014), Royal College of (RCOG) Obstetricians and Gynaecologists World Congress in Obstetrics and Gynaecology (Hyderabad, India, 2014; Australia, 2015), The 1st Congress of the Society of Endometriosis and Uterine Disorders «Endometriosis and women`s reproductive life» (Paris, France, 2015), II Региональной научно-практической конференции «Нейроэндокринная патология. Вопросы репродукции человека» (Ростов-на-Дону, 2016), X Юбилейный Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 2016).

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 30 научных работ, из них 9 в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена в традиционной форме. Состоит из введения, основной части, включающей обзор литературы, главы, посвященные собственным исследованиям и обсуждению полученных результатов, заключения, списка сокращений, списка литературы и приложения. Работа изложена на 166 страницах машинописного текста, содержит 43 таблицы, иллюстрирована 38

рисунками. Библиографический указатель включает 260 источников, из них 73 отечественных и 187 зарубежных источников.

Личный вклад автора

Автором проведен анализ современной литературы, осуществлен отбор пациенток в группы, их клиническое обследование, ведение пациенток с НГЭ, а также их оперативное лечение. Выполнена статистическая обработка, анализ полученных данных и обобщение результатов клинико-лабораторных исследований.

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ института

Работа выполняется в соответствии с планом государственного задания научно-исследовательских работ утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации (приказ от 02.09.2010 г. №671) в рамках темы «Изучение молекулярно-клеточных механизмов формирования эндометриозной болезни с целью разработки системы репродуктивного мониторинга (2012-2014 г.г.)» дата государственной регистрации от 24.12.2011 г.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология по нескольким областям:

3. Исследование эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний.

4. Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний. Оптимизация диспансеризации беременных и гинекологических больных.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о наружном генитальном эндометриозе

НГЭ на сегодняшний день является одной из наиболее загадочных и нерешенных проблем современной гинекологии. В структуре гинекологической заболеваемости эндометриоз занимает 3-е место после воспалительных процессов и миомы матки, поражая до 50 % женщин репродуктивного возраста (Адамян Л.В. и соавт., 2006; Цвелев Ю.В. и соавт., 2007; Кондратьева П.Г., 2010; Kennedy S. et al., 2005; Simoens S., 2007; Meuleman C. et al., 2009).

В последнее время отмечена тенденция к более быстрому прогрессированию и тяжелому течению заболевания именно у женщин с сохраненной менструальной функцией. Согласно результатам исследования Международной ассоциации эндометриоза, в котором приняло участие 4000 больных эндометриозом, у 50% респонденток первые признаки болезни проявились в возрасте до 24 лет, у 21% - до 15 лет, у 17% - между 15 – 19 годами. Эндометриозом страдает приблизительно каждая 10-я женщина репродуктивного возраста. Это более 170 млн. женщин во всем мире. Заболевание не зависит от национальности, социального статуса и образа жизни (Eskenazi B. et al., 1997; Hummelshij L. et al., 2006).

Эндометриоз является хроническим гинекологическим заболеванием, главными клиническими проявлениями которого является персистирующая боль и бесплодие. Он представляет собой доброкачественное разрастание вне полости матки ткани по морфологическим и функциональным свойствам подобной эндометрию (Линде В.А. и соавт., 2010; Адамян Л.В. и соавт., 2011).

Основными клиническими проявлениями НГЭ являются боли в нижних отделах живота и поясничной области различной интенсивности (30-50%), дисменорея (60-80%), меноррагия (30-40%), диспареуния (25-40%). Нередко у больных эндометриозом, страдающих болевым синдромом, отмечаются

расстройства психоэмоциональной сферы в виде неустойчивости настроения, раздражительности, эмоциональной лабильности; у ряда пациенток наблюдаются истерия, депрессия (Баскаков В.П. и соавт., 2002).

Наиболее важный клинический симптом эндометриоза – боль, связанная с менструальным циклом, тянущего характера внизу живота и в области поясницы в течение всего месяца, усиливающаяся накануне менструации и резко болезненные менструации. Нередко пациентка длительное время лечится от воспаления придатков матки, в то время как основной причиной боли является эндометриоз. Неудовлетворительные результаты лечения больных эндометриозом могут проявляться развитием у них хронического болевого синдрома, частота которого составляет от 5 до 50% и более (Линде В.А. и соавт., 2008, 2012). При этом необходимость выполнения повторных операций при рецидивах тяжелого эндометриоза, расширение объема оперативного вмешательства усугубляют синдром хронической тазовой боли (Адамян Л.В., 2013).

Первичное бесплодие у 40-50% женщин сочетается с эндометриозом, вторичное – у 30-40% (Кондратьева П.Г., 2010). Удовлетворительного объяснения увеличения частоты бесплодия у пациенток с эндометриозами не существует. Предполагается, что эндометриозы далеко не во всех случаях являются непосредственной причиной бесплодия. Оно может быть обусловлено сопутствующей патологией репродуктивной системы (Вихляева Е.М. и соавт., 1998.; Линде В.А. и соавт., 2010).

При эндометриозе среди выявленных молекулярных механизмов бесплодия следует отметить многоуровневое негативное влияние эндометриоза на последовательные этапы формирования ооцитов, процессы оплодотворения, раннего эмбриогенеза и имплантации. Фолликулогенез при наличии НГЭ характеризуется нарушениями стероидогенеза, синтеза простагландинов, присутствием повышенного количества иммунокомпетентных клеток (В-лимфоцитов, НК-клеток, измененным соотношением моноцитов – макрофагов). Провоспалительные изменения фолликулярной жидкости оказывают влияние на оогенез, при этом фиксируют удлинение фолликулиновой фазы, уменьшение

размера доминантного фолликула и активацию апоптоза клеток кумулюса. В перитонеальной жидкости больных эндометриозом повышено содержание активированных макрофагов, ИЛ-1, фактора некроза опухоли (ФНО), протеаз, антиэндометриальных аутоантител и лимфоцитов (Линде В.А., 2010; Адамян Л.В., 2013). Измененный состав перитонеальной жидкости может оказывать негативное влияние на процесс оплодотворения, нарушая подвижность сперматозоидов, вызывая активацию апоптоза сперматозоидов, препятствуя адекватной акросомальной реакции и прикреплению к *zonae pellucida* (Адамян Л.В., 2013).

Спаечный процесс в области органов малого таза является актуальной проблемой при НГЭ (Адамян Л.В. и соавт., 2010; Berkley K.J. et al., 2005; Mechsner S. et al., 2007; Wang G. et al., 2009; Giudice L.C., 2010). Болевой синдром и бесплодие может быть связано с развитием спаек в области смежных органов брюшной полости, маточных труб. Бурлевым В.А. и соавт. (2011) на основании собственных более чем десятилетних исследований по проблеме эндометриоза была разработана рабочая гипотеза, согласно которой схожесть строения базальной мембраны брюшины и сосудов позволяет предложить объединенную модель их повреждения. Было установлено, что существенное влияние на образование спаек и их преобразования оказывает перитонеальное окружение непосредственно или опосредованно через перитонеальную жидкость (Бурлев В.А. и соавт., 2012).

Насчитывают более 20 гистологических вариантов наружного эндометриоза, в том числе, такие как интраперитонеальный или субперитонеальный (везикулярный – кистозный или полиповидный), а также мышечно – фиброзный, пролиферативный, кистозный (эндометриоидные кисты) (Адамян Л.В., 2013).

В течение последних 50 лет разработано свыше 10 классификаций эндометриоза, но ни одна из них не признана универсальной (Адамян Л.В., 2013). Во всех классификациях были сделаны попытки обеспечить надежный прогноз на основе подробного описания деталей эндометриоидных поражений. В настоящее

время наиболее распространена классификация Американского общества фертильности, пересмотренная в 1996 г. (R-AFS), основанная на подсчете общей площади и глубины эндометриоидных гетеротопий, выраженных в баллах: I стадия — минимальный эндометриоз (1–5 баллов), II стадия — легкий эндометриоз (6–15 баллов), III стадия — умеренный эндометриоз (16–40 баллов), IV стадия — тяжелый эндометриоз (более 40 баллов) (Ищенко А.И. и соавт., 2002).

Многообразие локализаций эндометриоза обусловило большое число гипотез о его происхождении. Значительное количество концепций пытаются объяснить с различных позиций возникновение и развитие этого заболевания. Однако транслокационная (имплантационная) теория развития эндометриоза в настоящее время является наиболее распространенной. Предложена она была в начале XX века Sampson J.A. (1927) Согласно этой теории формирование эктопических очагов возникает в результате рефлюкса менструальной крови и дальнейшей имплантации эндометриальных клеток на мезотелии и окружающие органы (Линде В.А. и соавт., 2012). Тем не менее, ретроградная менструация – процесс, имеющий место у практически 90% женщин репродуктивного возраста, и только у 10-15% из них развивается эндометриоз (Gajbhiye R. et al., 2012). В связи с чем, должны существовать дополнительные факторы, участвующие в этиологии и патогенезе эндометриоза. В настоящее время продолжают обсуждать теории происхождения эндометриоза: метапластическую, дизонтогенетическую, лимфогенную и гематогенную диссеминацию в брюшную полость (Адамян Л.В. и соавт., 2006; Линде В.А., и соавт., 2012).

Данные литературы свидетельствуют о зависимости развития эндометриоидных структур от гормонального статуса, нарушения содержания и соотношения стероидных гормонов. Для возникновения эндометриоза в первую очередь имеют значение особенности деятельности гипоталамо - гипофизарно-яичниковой системы (Inoue T. et al., 1996; Horie S. et al., 2005). Это находит подтверждение в том, что самые ранние случаи эндометриозов обнаруживаются

только в 10-11-летнем возрасте, когда гормональная система уже подготавливает начало менструаций (Сулейманова З.А. и соавт., 2000; Линде В.А. и соавт., 2010)

У больных эндометриозом возникают хаотические пиковые выбросы фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов, наблюдается снижение базального уровня прогестерона, у многих выявлены гиперпролактинемия и нарушение андрогенной функции коры надпочечников (Адамян Л.В. и соавт., 1996).

Отмечают высокую частоту синдрома неовулировавшего фолликула (ЛЮФ-синдрома) при сохранении внешних параметров овуляторного менструального цикла: двухфазной базальной температуры, достаточного уровня прогестерона в середине лютеиновой фазы, секреторных изменений эндометрия (Савицкий Г.А. и соавт., 2002; Кондартьева П.Г. и соавт., 2010).

Диагностика эндометриоза представляет определенные трудности. Исследования специалистов различных стран в этой области подтвердили, что часто диагноз ставят с опозданием в несколько лет (Дамиров М.М., 2010; Abbas S. et al., 2011).

В Великобритании период с момента появления боли до установления диагноза в среднем составляет 6,8 года, в Австралии (748 обследованных) - в среднем 1,7 года проходит от момента появления симптомов до консультации врачом и 4,4 года от консультации до установления диагноза. Среди 15-19-летних больных время установления диагноза составляет 8,3 года, среди 30-34-летних - 1,3 года. В США средняя задержка диагностики составляет 11,7 лет (Garcia L. et al., 2011).

Приведенные данные убедительно доказывают, что даже в экономически развитых странах, где имеются высокие медицинские технологии и высокий жизненный уровень, диагностика эндометриоза проводится не на должном уровне (Адамян Л.В., 2013).

В настоящее время ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза является высокоинформативным методом диагностики эндометриозидных кист яичников (Moore J. et al., 2002). В то же время, по данным разных авторов,

чувствительность этого метода для диагностики распространенных форм эндометриоза колеблется в довольно широких пределах от 44% до 99% (Адамян Л.В. и соавт., 2006). Для ультразвуковой диагностики ретроцервикального эндометриоза предпочтительным является трансвагинальная эхография. Также может быть полезной для диагностики ретроцервикального эндометриоза трансректальная ультрасонография (Fedele L. et al., 2001). Чувствительность и специфичность данного метода диагностики составляют 97,1% и 89,4% соответственно (Charpon C. et al., 2004.). Следует отметить, что сонография не имеет значения для диагностики перитонеального эндометриоза.

За последние годы накоплены данные о возможности использования неинвазивного метода магнитно-резонансной томографии (МРТ) для диагностики распространенных форм эндометриоза и эндометриоидных кист яичников. Преимуществом этого метода является высокая разрешающая способность контрастирования мягких тканей (Гаврилова Т.Ю., 2002.). МРТ позволяет оценить характер патологического процесса, его локализацию, взаимосвязь с соседними органами, особенно это важно при выраженном рубцово-спаечном процессе с вовлечением различных органов и анатомических структур малого таза. Следует отметить, что согласно руководству по диагностике и лечению эндометриоза ESHRE (Dunselman G.A. et al., 2014), не существует данных о преимуществе диагностических возможностей метода МРТ по сравнению с лапароскопией. В то же время в случаях, когда имеются клинические проявления инфильтрирующих форм эндометриоза с поражением мочевого пузыря, кишечника или мочеточников, в качестве информативных методов диагностики следует использовать МРТ, ультрасонографию (трансректальную, трансвагинальную), УЗИ почек (Антонова С.О., 2012).

Согласно современным представлениям "золотым стандартом" для верификации диагноза НГЭ является проведение лапароскопического вмешательства, при котором происходит визуальная оценка состояния органов малого таза и осуществляется забор материала тканей для гистологического исследования. Положительная гистология подтверждает диагноз, отрицательная

его не исключает (Marchino G.L. et al., 2005; Slack A. et al., 2007; Jacobson T.Z. et al., 2010; Fuldeore M. et al., 2011; Dunselman G.A. et al., 2014). В некоторых исследованиях были получены данные о низком проценте гистологического подтверждения диагноза эндометриоза при исследовании биоптатов "типичных" эндометриоидных гетеротопий (Moen M.H. et al., 1992; Walter A.J. et al., 2001). Это может быть связано с выраженным фиброзом в эктопическом очаге или недостаточным размером биоптата, взятого для исследования, а также низким качеством гистологического образца (Dunselman G.A. et al., 2014). При локализации эктопических очагов на поверхности брюшины точность метода диагностики достигает 100% (Кулаков В.И., 1997). По мнению Koninckx P.R. (1999), при лапароскопии глубокие инфильтративные формы эндометриоза могут иметь вид начальной стадии заболевания, что приводит к недооценке тяжести эндометриоза (Dunselman G.A. et al., 2014).

Следует отметить, что проведение диагностической лапароскопии сопряжено с риском развития незначительных осложнений ~ 3% (например, диспепсические расстройства), а также таких тяжелых осложнений как перфорация кишечника, сердечнососудистые осложнения и др., которые, имеют место 0,6 до 1,8 случаев на 1000 лапароскопических диагностических вмешательств (Chapron C., 1998). Глубокие инфильтративные очаги эндометриоза, расположенные в маточно-прямокишечном углублении, можно диагностировать при клиническом осмотре с использованием ректовагинального исследования, а к лапароскопии прибегать для его удаления.

В настоящее время накапливается все больше доказательств того, что хирургическое лечение эндометриоидных кист яичников негативно влияет на овариальный резерв (Кира Е.Ф. и соавт., 2004; Gupta S. et al., 2006; Garcia-Velasco J.A., 2009; Tsoumpou I. et al., 2009).

По мнению Brosens I. и соавт. (2014), лечение эндометриоидной кисты яичника не учитывает истинной патологии в яичнике. Сама эндометриома оказывает неблагоприятное воздействие на фолликулярный резерв в кортикальном слое яичника (Maneschi F. et al., 1993). Цистэктомия у молодых

пациенток с эндометриомой может особенно негативно сказаться на овариальном резерве, поскольку удаляется участок паренхимы яичника, размер которого зависит от диаметра кисты. Выжидательная тактика не всегда является лучшим выбором при подозрении на эндометриому (Nachisuga T. et al., 2002; Muzii L. et al., 2002).

Существует мнение, что хирургическое удаление даже односторонней эндометриоидной кисты связано с немедленным и стойким снижением овариального резерва. В исследовании Urman В. и соавт. (2013) было показано, что спустя 1 месяц после операции у пациенток наблюдалось значимое снижение концентрации антимюллерова гормона (АМГ) и числа антральных фолликулов на 24% и 11% соответственно в сравнении с предоперационными значениями. Через 6 месяцев отмечалось снижение этих показателей на 24% и 15% соответственно. Примордиальные фолликулы, расположенные рядом с капсулой кисты, были обнаружены в 61,5% образцов.

В другом исследовании Tang Y. и соавт. (2013) показали, что в циклах ЭКО у пациенток число антральных фолликулов, число доминантных фолликулов и число полученных ооцитов были ниже в оперированных яичниках в сравнении с интактными. Снижение этих показателей было более выражено в группе пациенток с кистой > 4 см в сравнении с пациентками с эндометриомой < 4 см. Была показана статистически значимая положительная корреляция между размером удаленной кисты и частотой получения менее четырех ооцитов из оперированного яичника.

Многие специалисты считают оправданным перед использованием ЭКО выполнение хирургической эксцизии всех интраоперационно обнаруживаемых эндометриоидных гетеротопий, так как нелеченный тяжелый эндометриоз может снижать эффективность ЭКО (Корсак В.С. и соавт., 2006; Adamson G.D. et al., 2006).

Benaglia L. и соавт. (2013) представили данные об исходах ЭКО у пациенток с неоперированными билатеральными эндометриоидными кистами яичников и показали, что у них значимо снижался ответ яичников на стимуляцию

суперовуляции. Общее число развившихся фолликулов составило $9,6 \pm 3,3$ и $14,1 \pm 6,8$ в опытной и контрольной группах соответственно. При этом овариальные эндометриомы не оказывали негативного влияния как на пункцию фолликулов, так и качество полученных ооцитов. Число забранных ооцитов на общее число выросших фолликулов в группе с НГЭ и контрольной группах составило 77% и 71% соответственно. Частота оплодотворения и имплантации, число эмбрионов отличного качества на один использованный ооцит так же было одинаково в обеих группах, как и частота наступления клинической беременности и частота родов. Это свидетельствует о том, что при использовании ЭКО у пациенток с билатеральными эндометриомами должен быть использован индивидуальный подход и разумная хирургическая тактика.

Эндометриоз является примером детально изученного мультифакторного заболевания, являющегося результатом взаимодействия неблагоприятных генетических, средовых и эпигенетических факторов.

Несмотря на многочисленные исследования молекулярных процессов при эндометриозе и предложения использования различных клеточных регуляторов в качестве маркеров неинвазивной диагностики этого заболевания, специфические показатели до сих пор не найдены.

Vodolazkaia A. и соавт. (2012) изучали биомаркеры в плазме крови у женщин с хирургически подтвержденным эндометриозом и без такового. В результате, исследователям удалось разработать две модели, каждая из которых включала 4 биомаркера: модель I (аннексин V, СЭФР, СА-125 и гликоделин) и модель II (аннексин V, СЭФР, СА-125 и растворимые внутриклеточные адгезивные молекулы-1), которые характеризовались высокой чувствительностью (81–90%) и специфичностью (63–81%) для определения эндометриоза, не подтверждаемого с помощью УЗИ. Определение вышеуказанных показателей должно проводиться во время менструации.

Одним из широко применяемых в клинической практике методов мониторинга эндометриоза является определение уровня онкомаркеров в сыворотке крови, наиболее часто СА-125. В качестве мониторинга заболевания у

больных до, после операции и на фоне лечения гормональными препаратами эффективным является определение концентрации СА-125, раково-эмбрионального антигена (РЭА), СА19-9 (Кулаков В.И. и соавт., 2001; Антонова С.О., 2012). Согласно опубликованным данным, определение уровня онкоантигенов является высокочувствительным, но не специфическим методом. Концентрация СА-125 в крови здоровых женщин, составляет в среднем 8,3 Ед/мл, при эндометриозе – 27,2 Ед/мл и в 99% случаев не превышает 35 Ед/мл. Специфичность определения этого маркера при эндометриозе составляет 97%, чувствительность – лишь 27% (Varma R. et al., 2004; Kennedy S. et al., 2005). Ценность определения этого маркера снижается при сопутствующих гнойно-воспалительных процессах. Содержание РЭА в сыворотке крови здоровых женщин составляет в среднем 1,3 нг/мл и в норме не должно быть более 2,5 нг/мл, у больных эндометриозом – 4,3 нг/мл (Адамян Л.В., 2013). Уровень этого онкомаркера повышается при эндометриозе, раке шейки матки, эндометрия, яичников и вульвы (Gupta S. et al., 2006).

Таким образом, несмотря на несомненные успехи исследователей в выявлении способов верификации диагноза, распространенности патологического процесса, поиск новых методов неинвазивной диагностики и мониторинга течения НГЭ на фоне проводимой терапии является перспективным направлением научного поиска (Антонова С.О., 2012).

1.2. Протеомный анализ и его значение для диагностики эндометриоза

Существенный прогресс в понимании патогенеза различных заболеваний и поиске информативных маркеров стал возможен благодаря разработке и внедрению в биомедицинские исследования современных достижений протеомики – дисциплине, дающей представление о совокупности белков исследуемого объекта, экспрессируемых геномом (протеоме). Поскольку белки выполняют многочисленные регуляторные функции, качественный (синтез новых белков, отсутствие ранее имеющихся, постсинтетические изменения) и

количественный анализ протеома (различие в уровне экспрессии) может дать важную информацию о динамике молекулярных процессов в норме и при патологии (Говорун В.М., 2002; Арчаков А.И., 2004; Upadhyay R.D., 2013).

Методологически в протеомике выделяют несколько направлений, главными среди которых являются функциональная, структурная и диагностическая (клиническая) протеомика. Задача структурной протеомики сводится к выделению, очистке, определению первичной, вторичной и третичной структур всех белков. Целью функциональной протеомики является определение функций каждого из белков протеома, анализ межбелковых взаимодействий и их влияния на экспрессию и модуляцию активности генов, а также оценка посттрансляционных модификаций белков. Диагностическая протеомика – новая и перспективная область биомедицинских исследований, позволяющая выявлять пептидные и белковые паттерны, характерные для определенного заболевания (Сарвилина И.В., 2007). Сравнение клеток из нормальных и патологических объектов по их белковым профилям, исследование не только тканей, но и биологических жидкостей представляет огромный интерес и открывает совершенно новые перспективы для диагностической медицины.

В основе протеомики лежит обширный комплекс методов, позволяющих разделять, детектировать, идентифицировать и количественно анализировать протеом (Громов П.С., 2000). Протеомный анализ биологического образца включает в себя ряд последовательно реализуемых этапов: сбор материала, пробоподготовку образцов, разделение белков изучаемого объекта, детекцию и идентификацию белков. Фракционирование белков по двум физико-химическим свойствам (изоэлектрической точке и молекулярной массе) проводят методом двумерного электрофореза в полиакриламидном геле, что позволяет исследовать практически все белки, содержащиеся в изучаемом образце. После фракционирования проводят визуализацию белковых пятен в гелевых пластинах с помощью детекции различными красителями, среди которых особенно широко применяются нитрат серебра и кумасси голубой (Barbosa E.V., 2012). Альтернативным методом гель-электрофорезу является жидкостная

хроматография, позволяющая осуществить разделение белков по заряду (ионообменная хроматография), параметрам гидрофобности (гидрофобная хроматография), способности к связыванию с различными лигандами (аффинная хроматография), однако хроматографические методы обладают меньшим разрешением (Сучков С.В., 2013).

Для идентификации выделенных белков применяют также различные методы: масс-спектрометрию, микросеквенирование, иммуноблоттинг. Одним из наиболее перспективных методов идентификации белков является масс-спектрометрия, основанная на формировании в вакуумном пространстве ионизированных частиц триптических пептидов с последующим анализом отношения массы ионов к их заряду (Kolialexi A., 2008). Данное отношение сопоставляется с таковым в международных базах данных и интернет-библиотеках, что позволяет идентифицировать белки. Существуют различные модификации масс-спектрометрии, которые подразделяются в зависимости от используемых методов ионизации и детекции частиц: MALDI (matrix-assisted laser desorption/ ionization – матрично-ассоциированная лазерная десорбция/ ионизация), SELDI (surface-enhanced laser desorption/ ionization – усиленная поверхностью лазерная десорбция/ ионизация) и ESI (electrospray ionization – электроспрейная ионизация).

Еще одним из используемых методов является иммуноблоттинг, который проводят с использованием моноклональных антител к индивидуальным антигенным детерминантам (к линейным и конформационно-зависимым, включая ряд криптопептидных эпитопов), но рамки его применения ограничиваются только имеющимися в распоряжении антителами.

В настоящее время единственным подходом, позволяющим осуществлять интегральный мониторинг функциональной активности генома клетки на белковом уровне, является двумерный электрофорез. Это основная технология в комбинации с масс-спектрометрией и оценкой белков составляет современную основу протеомики (Громов П.С., 2000).

Среди всех тканей организма плазма крови в наибольшей степени отражает белковый состав: протеом плазмы включает около 1/10 всех присутствующих в организме белков. Выделяют: белки, функционирующие в плазме; иммуноглобулины; гормоны; цитокины; транзиторно проходящие через плазму белки; внутриклеточные белки, попадающие в плазму при разрушении или повышении проницаемости клеток; белки, отсутствующие в норме и секретируемые малигнизированными клетками; чужеродные белки. Не меньше 1/2 белков плазмы существует в виде мультипротеиновых комплексов. С помощью особых молекулярных меток, вводимых в молекулу белка, возможны выделение и изоляция таких комплексов в целях их дальнейшего исследования на предмет особенностей конкретного интерактома. К настоящему времени идентифицировано более 10 000 белков плазмы на основе масс – спектрометрического анализа одного или двух пептидов каждого белка и более 3000 белков – при идентификации двух и более пептидов. Почти 900 белков плазмы идентифицированы с достоверностью 95% (Сучков С.В. и соавт., 2013; Anderson N.L. et al., 2002).

1.3. Белковый спектр перитонеальной жидкости и клеточные регуляторы в патогенезе наружного генитального эндометриоза

В настоящее время многими авторами показана важная роль перитонеальной жидкости в формировании и поддержании роста гетеротопического эндометрия (Koninckx P.R., 1999; Bedaiwy M.A., 2003). Эта специфическая микросреда, содержащая различные биоактивные соединения, которые секретируются перитонеальными макрофагами, клетками эндометриоидных гетеротопий и клетками эндотелия (Ramey J.W., 1993; Oral E., 1996). Имеются данные, что у женщин репродуктивного возраста объем перитонеальной жидкости непостоянен и меняется на протяжении менструального цикла. Она образуется из отделяемого маточных труб,

секреторных выделений яичников и брюшины (Алиханова З.М., 1991; Donnez J. et al., 1982; Cicinelli E. et al., 2009).

В основе любой из форм эндометриоза лежат также и иммунологические нарушения (Калинина Н.М. и соавт., 2007; Линде В.А. и соавт., 2008; Hill J.A., 1992; Dmowski W.P. et al., 2004). Пролиферация эндометриоидных клеток в других тканях возможна в результате повышения уровня эстрогенных гормонов, которые стимулируют секрецию кортикостероидов. Последние в свою очередь, подавляют местный клеточный и гуморальный иммунитет, тем самым, обеспечивая благоприятные условия для инвазии и развития жизнеспособных клеток эндометрия (Ищенко А.И. и соавт., 2002). Выраженные изменения иммунологических параметров у больных эндометриозом наблюдается как на системном, так и на местном уровнях, при этом для разных форм эндометриоза характерны разные изменения (Савицкий Г.А., Горбушин С.М., 2002; Адамян Л.В. и соавт., 2006; Малышкина А.И. и соавт., 2012).

Многочисленные исследования доказывают, что эндометриоз развивается на фоне нарушенного иммунного равновесия, а именно Т-клеточного иммунодефицита, угнетения функции Т-супрессоров, активации гиперчувствительности замедленного типа, снижения активности Т-лимфоцитов при одновременной активации В-лимфоцитарной системы и снижении функции естественных киллеров (NK) (Ищенко А.И. и соавт., 2002; Oosterlynk D.J. et al., 1991).

Одним из основных патогенетических механизмов прогрессирования эндометриоза является подавление генов супрессоров опухолевого роста (CDKN2B, CDKN2A, ARF) и активация генов раннего (эмбрионального) развития женского репродуктивного тракта (НОХА, НОХВ, WNT4), которые способствуют метастазии клеток эндометрия, приобретающих склонность к пролиферации (Калинина Е.А. и соавт., 2012; Сакмак Н. et al., 2010). Попадая в брюшную полость, они имплантируются в брюшину благодаря особенностям клеточной адгезии, обеспечиваемой белками кадхеринами и ферментами металлопротеиназами, а так же дефекту NK-клеток (Баранов В.С., 2013;

Rahmioglu N. et al., 2012). Таким образом, на первом этапе эндометриоза генетически нормальные клетки эндометрия, подвергаясь метаплазии, трансформируются в клетки доброкачественной опухоли, обладающие способностью к инвазии эпителиальных клеток брюшины. Имеются данные, позволяющие считать, что вся эндометриозная ткань, как и при других опухолях, берет начало из единичной клетки, прошедшей метаплазию (Баранов В.С., 2013; Guo S.W., 2009).

Совершенно новую группу генов отводят генам регуляторных микроРНК. Подробный сравнительный анализ спектра микроРНК в нормальном эндометрии и в клетках эндометриом позволил обнаружить выраженные нарушения синтеза этих важных регуляторных молекул, содержание которых в эндометриозной гетеротопии сильно возрастает или наоборот снижается (Баранов В.С., 2013; Hull M.L. et al., 2012).

В норме в организме функционирует сложная, четко сбалансированная система ген-генов и белок-белковых взаимодействий, которая управляется гормонами, генами – регуляторами, эпигенетическими изменениями ДНК, включающими метилирование ДНК, изменения гистоновых белков, структуры хроматина, спектра регуляторных микроРНК. Нарушения механизмов этой регуляции составляют основу патогенеза эндометриоза.

В зарубежной литературе последних лет появился ряд работ по изучению протеомного состава различных биологических жидкостей при эндометриозе. Так, по данным Nabeta M. и соавт. (2009), в сыворотке крови при эндометриозе обнаружено повышение уровня антисинтаксина 5 и анти-альфа-енолазы. Zhang H. и соавт. (2006) установили различие в продукции виментина, бета-актина и бета-субъединицы АТФ-синтазы. Ametzazurra A. и соавт. (2009) в аспиратах эндометриальной жидкости из 31 идентифицированного белка установили два маркера: миезин и белок 14-3-3, которые предложили в качестве биомаркеров. Тем не менее, эти маркеры в дальнейшем не были оценены клинически.

Mihalyi A. и соавт. (2010) сообщили о шести биомаркерах в плазме крови: интерлейкине-6 (ИЛ-6), ИЛ-8, ФНО α , высокочувствительном С-реактивном

протеине, СА-125 и СА-19-9 для неинвазивной диагностики эндометриоза, однако они не специфичны.

В исследованиях перитонеальной жидкости, проведенных Ferrero S. и соавт. (2009), при указанной патологии выявлены различия в экспрессии 9 белков, в том числе изоформы комплемента С3, Р-компонента сывороточного амилоида, альфа-1-антитрипсина и клаустерина.

Gajbhiye R. и соавт. (2012) в своих исследованиях с помощью двухмерного иммуноблоттинга выявили три эндометриальных антигена: тропомиозин 3, стоматин-подобный протеин и тропомодулин 3. Уровни антител в сыворотке против эпитопов из иммунодоминантной области этих белков были повышены у пациенток с эндометриозом, что позволяет рассматривать их в качестве потенциальных маркеров. В то же время, по мнению самих авторов, необходимы дальнейшие исследования для подтверждения ценности этих биомаркеров на большем количестве образцов.

При развитии эндометриоза происходит активация медиаторов, вовлеченных в функционирование модели так называемого воспалительного ангиогенеза (Folkman J., 2002). Ангиогенез представляет собой многоэтапный комплекс с участием различных проангиогенных факторов роста, это так называемый чистый баланс факторов, определяющий финал ангиогенного фенотипа патологических феноменов, таких как опухоли и эндометриальные поражения (La Rosa J.C. et al., 2005).

Гены, кодирующие вазоактивные медиаторы, демонстрируют полиморфизмы, предрасполагающие к развитию эндометриоза вследствие промотирования образования внутриклеточных молекул адгезии-1, ИЛ-6, ИЛ-10 и др. (Kitawaki J. et al., 2002; Wieser F. et al., 2002; Vigano P. et al., 2003) или путем усиления секреции ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α и др. (Landi S. et al., 2003). Согласно модели воспалительного ангиогенеза, существует паракринный обмен факторами роста и способствующими выживанию факторами между эндометриоидными гетеротопиями и близлежащими сосудистыми эндотелиальными клетками, которые способны секретировать около 20 митогенов и антиапоптотических

факторов (Rak J. et al., 1995). В настоящее время при изучении эндометриоза уделяется особое внимание ангиогенным факторам роста, поскольку для успешной имплантации и роста гетеротопий требуется новообразование сосудов (Павлов Р.В., 2007; Laschke M.W. et al., 2011). К числу ведущих активаторов ангиогенеза относится СЭФР, основной функцией которого являются стимуляция пролиферации эндотелиальных клеток и регуляция проницаемости сосудов (Ермолова Н.В., 2008; Laschke M.W. et al., 2006; Becker C.M. et al., 2007; Coccia M.E. et al., 2010). Показано, что основным индуктором выработки СЭФР служит локальная гипоксия (Бурлев В.А. и соавт., 2002). Тем не менее, нет единого мнения относительно значения СЭФР в качестве биомаркера эндометриоза.

Так же, одним из важных процессов в перитонеальной жидкости является апоптоз. Этот механизм играет жизненно важную роль в процессе эмбрионального и онтогенетического развития, наблюдается в различных типах тканей, где выполняет функцию гомеостатической регуляции. Реализация запрограммированной гибели клеток происходит при различных патологических состояниях. При апоптозе происходит удаление клеток, выживание которых нежелательно для организма, например, злокачественно трансформированных, мутантных клеток или клеток, зараженных вирусом (Elmore S., 2007; Ghatage D.D. et al., 2012). Основные пути апоптоза: митохондриальный (Mohamad N. et al., 2005) или bcl-2-зависимый, липидный и путь, опосредованный через «рецепторы смерти» или FAS-зависимый (Walczak H. et al., 2000).

До сих пор не исследованы многие механизмы, не до конца выяснены пути регуляции апоптоза отдельных клеток в целостном многоклеточном организме (Reed J.C., 2000; Elmore S., 2007).

Существует большое количество белков, участвующих в апоптозе. Все их можно разделить на две функциональные группы: белки – триггеры и белки – модуляторы. Триггеры участвуют в индукции проапоптотического сигнала (например, белки из семейства ФНО, Т- и В-клеточные рецепторы, рецепторы гормонов). Модуляторы участвуют в трансдукции «сигнала смерти». За инициацией следует эффекторная фаза, в ходе которой происходит активация

каспазной системы клеток. Вслед за эффекторной наступает фаза деградации клетки, характеризующаяся деструкцией клеточного материала. Разрушение плазмалеммы может привести к утечке агрессивной внутриклеточной среды в межклеточное пространство, однако эта проблема устраняется в финальной фазе апоптоза – в фазе «очистки», когда умирающая клетка поглощается макрофагами (Рыжов С.В., 2002; Yuan J. et al., 2004; Aznaurova Y.V. et al., 2014).

Доказано, что s-форма FAS-рецептора иммунокомпетентных клеток обладает иммунорегуляторными свойствами, а ее уровень отражает процессы активации и элиминации клеток иммунной системы и может служить маркером течения патологического процесса. Так, например, одним из патогенетических аспектов опухолевой трансформации, аутоиммунных и атопических заболеваний является ингибирование апоптоза, связанное с увеличением концентрации в сыворотке крови s-формы мембранной молекулы FAS (Sturlese E., 2011). Напротив, неадекватное усиление апоптоза, развивающееся в результате падения уровня sFAS в крови, наблюдается при нейродегенеративных, диспластических процессах и ишемических повреждениях различных органов. Развитие инфекционного воспаления связано с процессами торможения апоптоза, а повышенный уровень sFAS – ингибитора апоптоза, является одной из причин слабого иммунного ответа на вирусную инфекцию и, как следствие, ее длительной персистенции в организме (Ярилин А.А. и соавт., 2000; Songye X. et al., 2004).

Несомненна роль sFAS-антигена в патогенезе опухолевого роста, т.к. растворимый FAS-антиген, взаимодействуя с FAS-лигандом на мембране цитотоксических Т-лимфоцитов, защищает опухолевые клетки от апоптоза. В результате опухолевые клетки, продуцирующие повышенное количество sFAS-антигена, получают преимущество в выживании и размножении. Поэтому определение уровня растворимого FAS-рецептора, очевидно, будет иметь большое практическое значение для выявления нарушений апоптотической реактивности иммунокомпетентных клеток при аутоиммунных, инфекционных и

онкологических заболеваниях (Обушева М.Н., 1999; Барышников А.Ю. и соавт., 2002).

Приведенный обзор литературы свидетельствует о том, что в числе различных компонентов, повреждения которых может приводить к развитию эндометриоза, а также диагностических маркеров этого заболевания одно из ведущих мест занимают белки. Модификация белковых молекул служит пусковым механизмом последующих метаболических нарушений, изменяющих функциональное состояние клеток. Поэтому изучение состава и свойств белков перитонеальной жидкости и сыворотки крови, регулирующих многочисленные процессы, происходящие в организме на молекулярном уровне, будет способствовать уточнению патогенеза НГЭ и оптимизации его диагностики.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика обследованных пациенток

В диссертацию включены материалы наблюдения за 88 женщинами, проходившими обследование и лечение в отделении гинекологии ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России с 2012 по 2014 гг.

Критерии включения пациенток в исследование: репродуктивный возраст пациенток, наличие жалоб на бесплодие и/или болевой синдром, проведение у больной эндоскопической операции (лапаро- и гистероскопия), подтверждающей НГЭ с последующей морфологической верификацией диагноза, у пациенток без НГЭ с целью исключения трубно-перитонеального фактора бесплодия, стерилизации.

Критериями исключения из исследования являлось: возраст пациенток старше 45 лет, злокачественные новообразования.

В Международную Классификацию Болезней 10-го пересмотра включена рубрика N 80 – эндометриоз и подрубрики, которые относятся к НГЭ: N 80.1 – эндометриоз яичников, N 80.2 – эндометриоз маточных труб, N 80.3 – эндометриоз тазовой брюшины.

Степень тяжести НГЭ определялась в баллах в соответствии с пересмотренной в 1996 году классификацией Американского Общества Фертильности (r-AFS) (1996). В зависимости от локализации, глубины инвазии, площади эндометриоидных очагов и выраженности спаечного процесса, различают 4 стадии НГЭ (брюшины, яичников): I-II стадия (минимальная, легкая) – оценивается как 1 - 15 баллов; III - IV стадия (умеренная, тяжелая) – 16 - 40 и больше баллов. Эта классификация на сегодня наиболее приемлема для определения стадий эндометриоза и действительно удобна в применении для стандартизации выборок больных при научных исследованиях (Адамян Л.В., 2012).

В ходе работы проведено комплексное обследование 88 пациенток, которые

были разделены на 3 клинические группы. В 1-ю группу включены 28 больных с I-II стадиями НГЭ, 2-ю группу – 30 пациенток с III-IV стадиями заболевания. 3-ю контрольную группу составили 30 пациенток без эндометриоза, проводивших обследование и стерилизацию. Распределение обследуемых пациенток по группам представлено в таблице 1.

Таблица 1 - Распределение обследуемых пациенток по группам

	Клинические группы		
	1 группа	2 группа	3 группа
Пациентки с I-II стадиями НГЭ	28		
Пациентки с III-IV стадиями НГЭ		30	
Пациентки контрольной группы			30

При анализе менструальной функции оценивались параметры: возраст наступления менархе, регулярность менструации, их длительность, болезненность, нарушения менструального цикла. Собиралась информация о проводимой ранее гормональной терапии. Половая жизнь оценивалась по времени ее наступления, регулярности, количеству половых партнеров, браков.

Тщательно изучены данные о наличии и объеме перенесенных ранее оперативных вмешательств, протоколы операций, результаты гистологических исследований, сведения о проводившемся обследовании и лечении (результаты лапароскопии, метросальпингографии, консультации специалистов, курсы антибактериальной и противовоспалительной терапии).

Репродуктивная и детородная функции обследуемых изучались на основании данных о количестве и исходах предыдущих беременностей, наличии и характере осложнений, длительности бесплодия. При указании на роды уточнялся их характер (срочные, преждевременные, оперативное родоразрешение).

Все клинические исследования проводились у пациенток с получением информированного согласия и протоколировались по стандартам Этического комитета Российской Федерации. В качестве объектов исследования были использованы кровь и перитонеальная жидкость.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Клиническое обследование пациенток

Анамнез

Для изучения анамнеза были собраны жалобы, данные о перенесенных заболеваниях, существующей патологии на момент обследования, наличии наследственных заболеваний, аллергии, выполненных лечебно-диагностических манипуляциях, оперативных вмешательствах. Особое внимание уделялось сопутствующим соматическим заболеваниям и стадиям процессов в настоящее время.

Осмотр пациенток

Для обследования пациенток использовались стандартные методы: визуальный осмотр, бимануальное исследование при котором оценивались расположение, консистенция, подвижность, размеры матки и придатков, а также выполнялось УЗИ. Определялся тип телосложения каждой больной. Оценивалось состояние кожных покровов и слизистых оболочек, состояние послеоперационных рубцов при их наличии, тургора кожи, степень развития и тип распределения подкожно-жировой клетчатки, характер оволосения. В обязательном порядке, проводился осмотр и пальпация молочных желез, исключение галактореи.

Гинекологическое обследование пациенток

При осмотре шейки матки в зеркалах выявляли наличие рубцовых деформаций, эндоцервицитов, эрозий, количества и характера выделений. Бимануальное исследование внутренних половых органов проводилось по общепринятой методике. Определяли размер, подвижность, консистенцию матки и придатков, наличие образований в малом тазу, болезненность при пальпации и

степень выраженности спаечного процесса.

Консультация специалистов (по показаниям)

Консультации узких специалистов: терапевта, эндокринолога, иммунолога, окулиста, генетика проводились по показаниям, с целью оценки общесоматического, иммунного и эндокринного статуса больных.

2.2.2. Клинико-лабораторное обследование

Унифицированные лабораторные методы обследования

Всем пациенткам проведено рутинное обследование: RW, ВИЧ, гепатит В, гепатит С, флюорограмма, ЭКГ, исследование кала на яйца глист. Всем пациенткам в рамках предоперационного обследования для выявления нарушений функций печени и почек, изменений в системе гемостаза проводились клинические и биохимические анализы крови и мочи. Изменения в системе гемостаза выявляли, определяя АЧТВ, протромбиновое и тромбиновое время, антитромбин III, фибриноген, РФМК, МНО, ПТИ.

Ультразвуковое исследование (УЗИ)

Ультразвуковое исследование органов малого таза женщинам осуществляли в положении лежа при опорожненном мочевом пузыре с помощью ультразвукового диагностического прибора «AlokaSSP-1400», 1998, сканирующего в реальном масштабе времени, снабженного 2-мя датчиками: эндовагинальным электронным датчиком с диапазоном, частоты UST-984-5 МНЧ и линейным датчиком -3,5 МНЧ. Исследование проводили на 8-11 дни менструального цикла с целью уточнения состояния матки и яичников, в послеоперационном периоде проводился УЗИ контроль через 3 и 6 месяцев в динамике на фоне проводимого лечения. При изучении биометрических

параметров обращали внимание на размеры и положение матки, состояние миометрия, эндометрия, размеры и локализацию яичников, наличие или отсутствие образований в них.

Эндоскопические методы

Лапароскопия

Лапароскопия проводилась в первую фазу менструального цикла по общепринятой методике с использованием оборудования фирмы KarlStorz (Германия).

Во время лапароскопии осуществлялся тщательный осмотр брюшной полости и органов малого таза. Осматривалась поверхность кишечника, печени, париетальная брюшина, диафрагма. Осмотр органов малого таза проводился в следующем порядке: внешне осматривалась матка (оценивали ее подвижность, размеры, окраску и консистенцию с передвижением матки с помощью предварительно введенного в полость матки со стороны влагалища маточного манипулятора). Затем осматривалась брюшина, покрывающая переднематочное пространство, позадиматочное пространство, область крестцово-маточных связок и широкой маточной связки. Особое внимание обращали на состояние брюшины и очагов эндометриоза (локализацию, количество, размеры и цвет эндометриоидных гетеротопий), характер перитонеальной жидкости (количество, цвет, гомогенность). Затем с помощью манипуляторов осматривались со всех сторон маточные трубы и яичники. Оценивали их величину, структуру, наличие спаек и их характер; степень вовлечения в спаечный процесс матки, придатков, смежных органов (мочевой пузырь, петли кишечника, сальник).

После визуальной оценки патологического процесса осуществляли забор перитонеальной жидкости из позади-маточного пространства с соблюдением правил, предотвращающих контаминацию кровью. Эндометриоидные очаги иссекались в пределах здоровых тканей, коагулировались, полученные биоптаты направлялись на гистологическое исследование.

В нашем исследовании выборка больных была ограничена черными и желто-коричневыми «типичными» эндометриоидными гетеротопиями.

Оценка степени распространения НГЭ осуществлялась согласно классификации r-AFS (1996), представлена в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты лапароскопии (стадии эндометриоза)

Брюшина	Эндометриоз	<1 см	1-3 см	>3 см
	• поверхностный	1	2	4
	• глубокий	2	4	6
Яичники	Правый			
	• поверхностный	1	2	4
	• глубокий	4	16	20
	Левый			
	• поверхностный	1	2	4
	• глубокий	4	16	20
	Облитерация прямокишечно-маточного углубления	Частичная 4		Полная 40
Адгезии		Вовлечение яичников $S < 1/3$	Вовлечение яичников $1/3 < S < 2/3$	Вовлечение яичников $S > 2/3$
Яичники	Правый			
	• пленчатые	1	2	4
	• плотные	4	8	16
	Левый			
	• пленчатые	1	2	4
	• плотные	4	8	16
Маточные трубы	Правый			
	• пленчатые	1	2	4
	• плотные	4*	8*	16
	Левый			
	• пленчатые	1	2	4
	• плотные	4*	8*	16
* При полном стенозе фимбрий, заменить оценку на 16 баллов				
I стадия (минимальная) 1 – 5 баллов; II стадия (легкая) 6 – 15 баллов; III стадия (умеренная) 16 -40 баллов; IV стадия (тяжелая) более 40 баллов.				

Оценка степени распространения аднексальных спаек при НГЭ, выявленная при проведении лапароскопии, осуществлялась согласно классификации r-AFS (1996), представленная в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты лапароскопии (стадия аднексальных спаек)

Орган		Спайки	< 1/3 прикрыто	1/3 - 2/3 прикрыто	>2/3 Прикрыто
Яичники	правый	Пленчатые	1	2	4
		Плотные	4	8	16
	Левый	Пленчатые	1	2	4
		Плотные	4	8	16
Маточные трубы	Правая	Пленчатые	1	2	4
		Плотные	4	8	16
	Левая	Пленчатые	1	2	4
		Плотные	4	8	16

		Левые маточные придатки		Правые маточные придатки
I.	Минимальная	-	0-5	-
II.	Средняя	-	6-10	-
III.	Умеренная	-	11-20	-
IV.	Тяжелая	-	21-32	-

Примечание: полное закрытие спайками фимбриального конца маточной трубы соответствует 16 баллам.

Хирургическое лечение во всех случаях выполнено лапароскопическим доступом в органосберегающем объеме. Основными задачами лапароскопического лечения считали: максимальное удаление всех эндометриоидных очагов; устранение спаечного процесса; восстановление нормальной анатомии внутренних половых органов.

Гистероскопия

Гистероскопия выполнялась по общепринятой методике с использованием оборудования фирмы KarlStorz (Германия). При наличии гиперплазии эндометрия выполнялось диагностическое выскабливание стенок полости матки с последующим гистологическим анализом.

Кольпоскопия

Кольпоскопия выполнялась по общепринятой методике с использованием

оборудования LEISEGANMod 3DLFNr 53000 (Германия).

2.2.3. Гистологическое исследование

Фрагменты биоптатов тканей брюшины, яичников и капсул эндометриоидных кист яичников, удаленных оперативным путем и соскобы полости матки, доставлялись в отдельной посуде и после маркировки фиксировались обычным способом, проводилась спиртово-формалиновая проводка и изготовление парафиновых блоков. Гистологические срезы делались серийно, окрашивались гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван Гизону.

2.2.4. Биохимические методы исследования

Исследования проведены на базе клинических и научных подразделений ФГБУ «РНИИАП», а также на базе отдела молекулярной биологии ЮНЦ РАН.

У пациенток, накануне операции, натощак осуществляли забор 5,0 мл крови из локтевой вены. Кровь центрифугировали при 1500 оборотов в минуту в течение 15 минут. Сыворотку крови отбирали в пробирки типа эппендорф объемом 1,5 мл и хранили при температуре -20° С. При выполнении лапароскопии из позади-маточного пространства получали перитонеальную жидкость.

Подготовка образцов перитонеальной жидкости для проведения электрофоретических исследований

Перед проведением протеомного анализа образцы перитонеальной жидкости размораживались при комнатной температуре 30 минут, по истечении получаса они хорошо встряхивались на вибрационной системе вортекс. В каждом образце определяли содержание белка по методу Бредфорда (Bradford, 1976). Для получения аналитических гелей использовали загрузку белка - 180 мкг/гель.

Двумерный электрофорез белков перитонеальной жидкости в полиакриламидном геле (Gorg A., 1995)

Первое направление электрофореза - изоэлектрофокусирование, в результате которого происходит разделение белков под действием электрического поля в зависимости от их электрических зарядов (изоэлектрических точек), проводили с использованием иммобилизованных стрипов (pH 3-10, 18 см, ReadyStrip IPG Strips, «Bio-Rad») на приборе Protein IEF Cell («Bio-Rad», США). Программа ИЭФ после активной регидратации (в течение 14 часов при 50 В) включала 4 этапа в режиме: 15 минут при 250 В, 2 часа при 10000 В, 6 часов при 10000 В, 12 часов при 500 В, до достижения общих 40000 В×ч при температуре 20 °С.

Второе направление 2Д-ЭФ (фракционирование белков по их молекулярной массе) – вертикальный электрофорез в денатурирующих условиях в градиенте полиакриламидного геля (8-16,5%) – осуществляли в камере Protean II xi Multi-Cell («Bio-Rad», США) при силе тока 10 мА на гель в течение 18 часов. В качестве стандартов молекулярных масс использовали набор белков, включающий миозин (200 кДа), β-галактозидазу (116,25 кДа), фосфорилазу b (97,4 кДа), сывороточный альбумин (66,2 кДа), овальбумин (45 кДа), карбоангидразу (31 кДа), ингибитор трипсина (21,5 кДа), лизоцим (14,4 кДа), апротинин (6,5 кДа).

После завершения второго направления электрофореза для визуализации белков гели окрашивали азотнокислым серебром с предварительной обработкой тиосульфатом.

Двумерные электрофореграммы сканировали (ImageQuant 300, «GE Healthcare», Швеция), сохраняли как графический файл в TIF-формате и анализировали с использованием пакета программ PDQuest («Bio-Rad», США). Собранный коллекция двумерных фореграмм перитонеальной жидкости использовалась в дальнейшем для построения интегрированных синтетических двумерных карт – «мастер-гелей», по которым осуществляли сравнительный анализ гелей между группами.

Сравнительный анализ полученных нами данных проводили по таким синтетическим двумерным картам белков («мастер-гелям»), которые включают белковые пятна двумерных электрофореграмм конкретных исследуемых групп. Основой для построения такого виртуального «мастер-геля» каждой группы стала коллекция двумерных электрофореграмм образцов перитонеальной жидкости женщин контрольной группы и 2-й группы.

Идентификация белков методом MALD-TOF-масс-спектрометрии

После вырезания белкового пятна из геля и процедуры трипсинолиза идентификацию белков проводили методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии (Shevchenko A., 1996). Метод основан на разделении с помощью электрического и магнитного полей заряженных частиц, с разным отношением массы частицы к ее заряду в результате ионизации, обусловленной воздействием импульсов лазерного излучения на матрицу с анализируемым веществом. В качестве матрицы использовали 2,5-дигидроксибензойную кислоту («Sigma», США).

Масс-спектры триптических гидролизатов белков получали на времяпролетном масс-спектрометре Autoflex II («Bruker Daltonics», Германия). Для каждой точки на мишени накапливалось 3000 спектров в ручном режиме.

Для получения и анализа масс-спектров использовали программы FlexControl и FlexAnalysis («Bruker Daltonics», Германия), для идентификации белков использовали программу BioTools версии 3.0 («Bruker Daltonics», Германия). По масс-листу каждого белкового пятна производился поиск по базам данных Национального центра биотехнологической информации США (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и стандартной базе данных Swiss-prot с использованием опции Peptide Fingerprint программы Mascot MS Search (Matrix Science, Великобритания). Результаты идентификации белков принимались как достоверные при уровне значимости не менее 95% и показателе перекрытия последовательности не менее 60%.

Определение содержания клеточных регуляторов в сыворотке крови и перитонеальной жидкости

Методом ИФА в перитонеальной жидкости и сыворотке крови определяли содержание ГСПГ с помощью набора фирмы «Алкор-Био» (Россия), Апо-AIV – «Cloud-Clone Corp.» (США), компонентов комплемента С3 и С4-b – «AssayPro» (США), FASL и СЭФР – «Bender MedSystems» (Австрия), СЭФР-R – «R&Dsystems» (США) на микропланшетном фотометре Sunrise (фирма «Tecan», Австрия). Используемые тесты обладают высокой чувствительностью и воспроизводимостью (таблица 4).

Таблица 4 – Характеристика тест-систем, использованных при проведении исследования

Показатель	Чувствительность	Воспроизводимость		Ед. измерения
		Внутри серии	Между сериями	
ГСПГ	2 нмоль/л	8%	10%	нмоль/л
Апо-AIV	34 пкг/мл	10%	12%	мкг/л
С3	0,6 нг/мл	4,7%	7,3%	мг/мл
С4-b	3 мкг/мл	4,9%	7,3%	мг/мл
sFASL	0,1 нг/мл	7,8%	10,6%	нг/мл
СЭФР	18,6 пкг/мл	8,9%	11%	пкг/мл
СЭФР-R1	2,72 пкг/мл	5,0%	4,8%	пкг/мл

В этих наборах используется метод твердофазного «сэндвич»-ИФА, при котором адсорбированные на лунках планшета антитела к исследуемому анализу, связываются с присутствующим в исследуемом материале антигеном, в результате чего формируется комплекс антиген-антитело. После удаления всех несвязавшихся веществ в лунки добавляют меченный пероксидазой конъюгат, который связывается с иммобилизованным иммунным комплексом, в результате чего активный центр фермента остается доступным для последующего

взаимодействия с субстратом. После добавления субстрата (тетраметилбензидина) образуется цветной комплекс, интенсивность окраски которого определяется при 450 нм.

Содержание исследуемых веществ в образце определяли, используя калибровочную кривую, показывающую прямую зависимость между оптической плотностью и концентрацией аналита в образце.

2.3. Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 10.0, фирмы StatSoft. Inc.). Проверка рядов данных на нормальность распределения осуществлялась с помощью критерию согласия Пирсона (Ланг Т.А., Сесик М., 2011). Применялись процедуры описательной статистики, с помощью которых находили значения медианы и интерквартильного размаха (25%, 75%). Для исследования переменных, имеющих распределение, отличное от нормального или неоднородную дисперсию, использовались непараметрические критерии: U Манна-Уитни и Краскела-Уоллеса. Оценка качественных показателей между сравниваемыми группами проводилась путем анализа таблиц сопряженности с использованием χ^2 -критерия (для таблиц 2x2 – в точном решении Фишера). Для исследования корреляционных взаимодействий выполнялся корреляционный анализ Спирмена с расчетом коэффициента ранговой корреляции (r). Для оценки диагностической значимости анализируемых показателей применялся метод логистической регрессии, «Деревья решений» и ROC-анализ с определением площади под ROC-кривой (area under ROC-curve – AUC), а так же уровня чувствительности и специфичности. Результаты оценивали статистически значимыми при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клиническая характеристика обследованных пациенток

Возраст

Возраст женщин всех групп находился в пределах от 17 до 42 лет. Распределение обследованных пациенток по возрасту представлено в таблице 5. Большинство женщин были в возрасте от 20 до 30 лет. При этом средний возраст больных 1-й группы составил 29 лет, женщин 2-й группы - 30,2 года, 3-й группы – 27,9 лет.

Таблица 5 – Возрастной состав пациенток клинических групп

Возраст	Клинические группы						Всего	
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)			
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
До 20 лет	1	3,6	0	0	4	13,3	5	5,7
От 20 до 30 лет	15	53,6	18	60	18	60	51	57,9
Старше 30 лет	12	42,8	12	40	8	26,7	32	36,4
Всего:	28	100	30	100	30	100	88	100

Менструальная функция.

Оценка менструальной функции производилась по различным параметрам: возраст наступления менархе, продолжительность менструального цикла, длительность менструации, наличие жалоб. Полученные данные приведены в таблицах 6 – 9.

Выявлено, что в группах пациенток с НГЭ наступление менархе приходилось, в основном, на период с 12 до 14 лет (у 49 из 58 пациенток) (таблица 6).

Таблица 6 – Возраст наступления менархе у наблюдаемых пациенток

Возраст	Клинические группы						Всего	
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)			
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
До 11 лет	1	3,6	3	10	2	6,7	6	6,9
12-14	24	85,7	25	83,3	21	70	70	79,5
15 и более	3	10,7	2	6,7	7	23,3	12	13,6
Всего:	28	100	30	100	30	100	88	100

Средний возраст начала менструации у женщин 1-й группы составил 13,1 лет, 2-й группы – 12,9 лет, в 3-й группе – 13,4 лет (таблица 7). Следовательно, различий в среднем возрасте менархе у пациенток с НГЭ и контрольной группы выявлено не было.

Таблица 7 – Средний возраст наступления менархе

Группа	Возраст, в годах
I-II стадия НГЭ	13,1
III-IV стадия НГЭ	12,9
Контроль	13,4

Регулярность менструального цикла отмечалась у большинства пациенток и в среднем составила 28-30 дней. Продолжительность менструального цикла в 1-й группе (НГЭ I-II стадиями) составила 28,6 дней, во 2-й группе (НГЭ III-IV стадиями) - 29 дней, в 3-й группе (контрольной) – 29,8 дней (таблица 8).

Таблица 8 – Продолжительность менструального цикла у наблюдаемых пациенток

Длительность (в днях)	Клинические группы						Всего	
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)			
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
21-23	1	3,6	0	0	1	3,3	2	2,3
24-30	22	78,6	27	90	20	66,7	69	78,4
Более 30	5	17,8	3	10	9	30	17	19,3
Всего:	28	100	30	100	30	100	88	100

Длительность менструации у большинства пациенток составила 3-5 дней (таблица 9). Обращает на себя внимание, что у 41,3% (24) пациенток с НГЭ длительность менструации > 5 дней.

Таблица 9 – Продолжительность менструации у наблюдаемых пациенток

Продолжительность (дни)	Клинические группы						Всего	
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)			
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
< 3	0	0	0	0	0	0	0	0
3 -5	12	42,8	22	73,3	23	76,7	57	64,7
> 5	16	57,2	8	26,7	7	23,3	31	35,3
Всего:	28	100	30	100	30	100	88	100

Дисменорея была выявлена у 63,7%(37) больных с НГЭ, из них – у 14(50%) пациенток с I-II стадиями и 23(76,7%) с НГЭ III-IV стадиями. В контрольной группе частота встречаемости дисменореи составила 33,3%(10) случаев, что достоверно ниже по сравнению с группами пациенток с НГЭ.

Репродуктивная функция

Из 58 обследованных больных с НГЭ 51,7%(30) страдали первичным бесплодием и у 18,9%(11) больных было диагностировано вторичное бесплодие (таблица 10). У пациенток с НГЭ I-II стадиями первичное бесплодие имело место в 64,3%(18) случаев, тогда как в группе с НГЭ III-IV стадиями – в 40%(12). Вторичное бесплодие было обнаружено в 1-й группе больных – у 21,4%(6) пациенток, во 2-й группе – у 16,6%(5). В контрольной группе первичное бесплодие выявлено у 12(40%) пациенток. Таким образом, у больных с НГЭ преобладает первичное бесплодие.

Также по нашим данным, не желали иметь детей и использовали различные методы контрацепции в 1-й группе – 14,3%(4), во 2-й группе – 43,3%(13) пациенток.

При вторичном бесплодии у пациенток 1-й группы имела место одна

беременность в 21,4%(6) случаев, тогда как более одной беременности было только у 10,7%(3) больных (таблица 11). У женщин 2-й группы беременности составили по 20%(6) соответственно. В 3-й группе пациентки с одной беременностью составили 13,3%(4), более одной беременности – 20%(6).

Таблица 10 – Длительность бесплодия у пациенток клинических групп

Бесплодие	Общее n=58		Женщины с I-II стадиями НГЭ n=28		Женщины с III-IV стадиями НГЭ n=30	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Первичное	30	51,7	18	64,3	12	40
< 5 лет	27	46,5	17	60,7	10	33,3
> 5 лет	3	5,2	1	3,6	2	6,7
Вторичное	11	18,9	6	21,4	5	16,6
< 5 лет	9	15,5	5	17,8	4	13,3
> 5 лет	2	3,4	1	3,6	1	3,3

Таблица 11 – Количество предыдущих беременностей у наблюдаемых пациенток

Беременность	Клинические группы						Всего (n=88)	
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)			
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Одна	6	21,4	6	20	4	13,3	16	18
Более одной	3	10,7	6	20	6	20	15	17

Число медицинских аборт в анамнезе у пациенток 1-й и 2-й групп составило по 4(14,3%), а в 3-й группе у 3 пациенток (10%) (таблица 12). Роды в срок через естественные родовые пути имели место у 3(10,7%) пациенток 1-й группы, во 2-й группе - у 10 пациенток (33,3%), а в 3-й группе у 4(13,3%). Число беременностей с неблагоприятным исходом в 1-й группе составило – 17,8%(5), во 2-й группе – 3,3%(1), тогда как в 3-й группе – 20%(6).

Таблица 12 – Характер детородной функции у наблюдаемых пациенток

Исходы предыдущих беременностей	Клинические группы					
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Искусственный аборт	4	14,3	4	13,3	3	10
Самопроизвольный аборт	2	7,1	1	3,3	4	13,3
Неразвивающаяся беременность	2	7,1	0	0	1	3,3
Внематочная беременность	1	3,6	0	0	1	3,3
Роды в срок	3	10,7	10	33,3	4	13,3
Кесарево сечение	0	0	1	3,3	3	10

Перенесенные заболевания

Для анализа структуры перенесенные заболевания были разделены на гинекологические и экстрагенитальные.

Гинекологические заболевания обследованных женщин

Структура гинекологических заболеваний у пациенток с отягощенным гинекологическим анамнезом представлена в таблице 13 и рисунке 1.

Таблица 13 – Структура гинекологических заболеваний

Нозология	Клинические группы					
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Хламидиоз, трихомониаз (ИППП)	14	50	6	20	11	36,6
Бесплодие	24	85,7	17	56,6	18	60
Хронические воспалительные процессы женских половых органов	14	50	12	40	10	33,3
Дисплазии шейки матки	6	21,4	3	10	1	3,3
Фоновые заболевания шейки матки	4	14,3	10	33,3	4	13,3

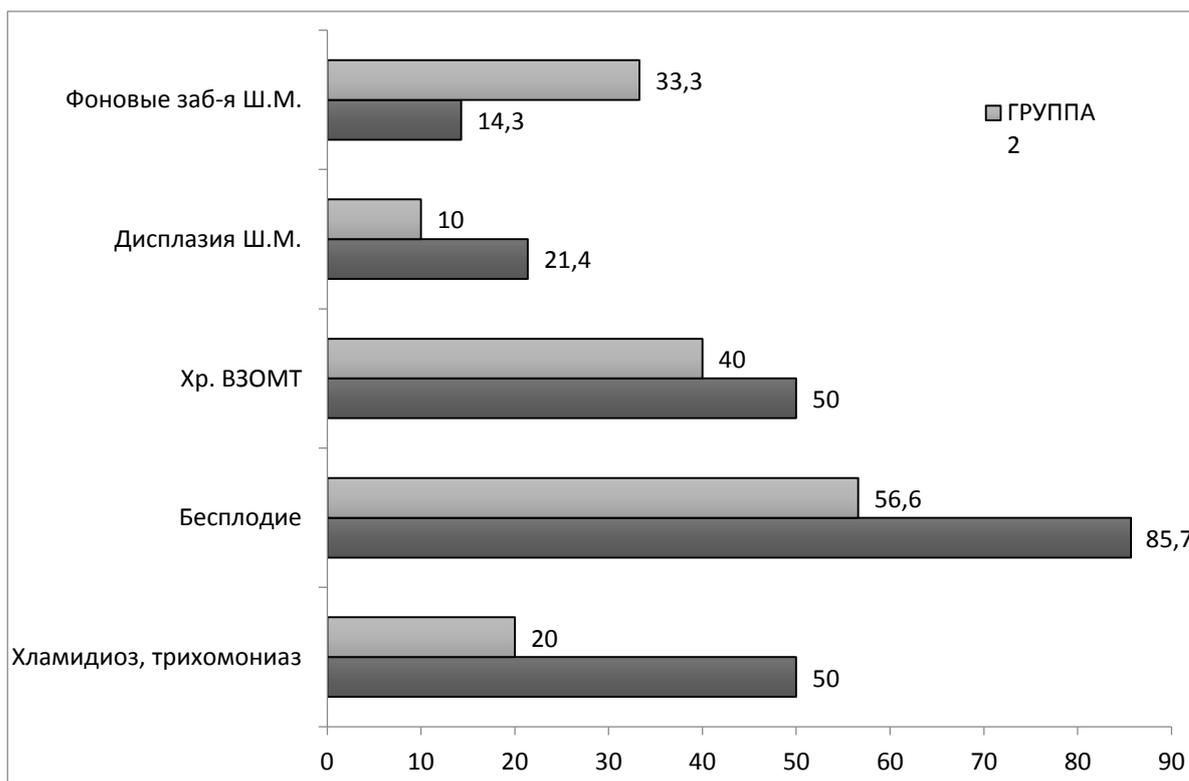


Рисунок 1 – Структура гинекологических заболеваний.

У пациенток с I-II стадиями НГЭ инфекции, передаваемые половым путем, и хронические воспалительные процессы одинаково имели место у 50%(14) больных, тогда как у пациенток с III-IV стадиями НГЭ ИППП были обнаружены у 20%(6), а ВЗОМТ – у 40%(12) женщин. У пациенток 3-й группы ИППП имели место у 36,6%(11) пациенток, ВЗОМТ – у 33,3%(10) больных. Фоновые заболевания шейки матки были выявлены у 14,3% (4) больных с I-II стадиями НГЭ, у 33,3% (10) пациенток с III-IV стадиями НГЭ, что достоверно выше по сравнению с контрольной группой. Дисплазия шейки матки обнаружена у 21,4%(6) пациенток 1-й группы, у 10%(3) пациентов 2-й группы, в контрольной группе – 3,3%(1) женщин. Таким образом, у больных с НГЭ I-II стадиями преобладает неблагоприятный фон в виде наличия в анамнезе заболеваний, вызываемых ИППП, ВЗОМТ и патологии шейки матки.

В структуре перенесенных ВЗОМТ и выявленных ИППП, обращает на себя внимание высокий удельный вес хламидиоза – у пациенток 1-й группы обнаружен в 32,1% (9), во 2-й группе – 13,3%(4), тогда как в 3-й группе – 23,3%(7) (таблица 14, рисунок 2). Дисбиоз обнаружен у пациенток группы в 10,7%(3), у пациенток

2-й группы в 3,3%(1), тогда как в 3-й группе наблюдалось отсутствие данного заболевания; микоплазмоз у пациенток 1-й группы обнаружен в 10,7%(3), а у пациенток 2-й группы отсутствует данная патология. Трихомониаз в 1-й группе – 17,8%(5), во 2-й группе – 6,6%(2), а контрольной группе – 13,3%(4).

Таблица 14 – Перенесенные заболевания, обусловленные ВЗОМТ и ИППП у больных с НГЭ

Нозология	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
ВЗОМТ	14	50	12	40	10	33,3
Дисбиоз	3	10,7	1	3,3	0	0
ИППП	14	50	6	20	11	36,6
Хламидиоз	9	32,1	4	13,3	7	23,3
Трихомониаз	5	17,8	2	6,6	4	13,3

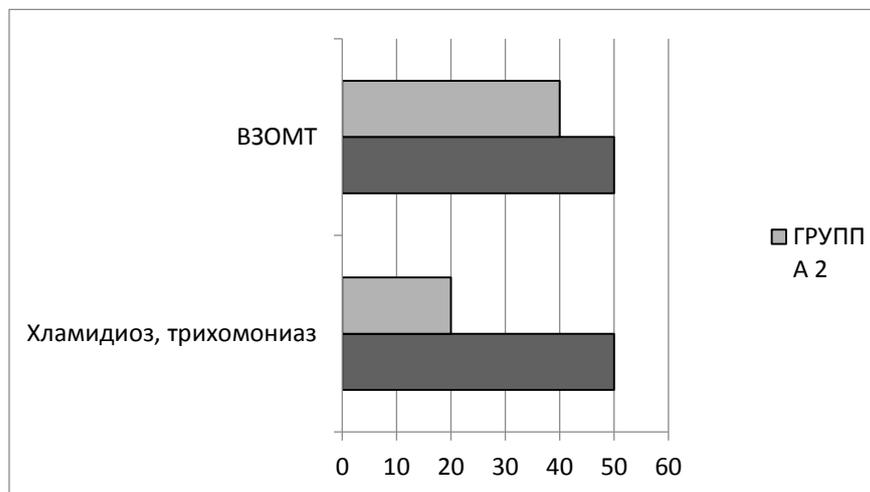


Рисунок 2 – Перенесенные заболевания, обусловленные ВЗОМТ и ИППП у больных с НГЭ.

Лапаротомия в анамнезе имела место у 17,8%(5) больных с I-II стадиями НГЭ, в 14,3%(4) случаев – лапароскопия, в 10,7%(3) случаев - овариэктомия и в

3,6%(1) была проведена резекция яичников (таблица 15). У пациенток с III-IV стадиями 10%(3), 13,3%(4), 3,3%(1) и 3,3%(1) соответственно, тогда как в контрольной группе лапаротомия выполнена у 5(16,7%) пациенток, лапароскопия у 2(6,7%), резекция яичников и овариоэктомия не проводилась, что достоверно ниже по сравнению с группами НГЭ. Тубэктомия составила 3,3%(1) случаев у пациенток с III-IV стадиями НГЭ и не проводилась пациенткам из 1-й и контрольной групп. Перенесенные ранее операции на придатках и яичниках у пациенток с I-II стадиями НГЭ являются тем неблагоприятным фоном, на котором происходит формирование НГЭ.

Таблица 15 – Перенесенные оперативные вмешательства

Вмешательство	Клинические группы					
	Женщины с I-II стадиями НГЭ (n=28)		Женщины с III-IV стадиями НГЭ (n=30)		Контрольная группа (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Лапаротомия	5	17,8	3	10	5	16,7
Лапароскопия	4	14,3	4	13,3	2	6,7
Тубэктомия	0	0	1	3,3	0	0
Овариоэктомия	3	10,7	1	3,3	0	0
Резекция яичника	1	3,6	1	3,3	0	0

Экстрагенитальные заболевания

У пациенток с НГЭ наиболее часто встречались эндокринопатии в 17,2% (10) случаев, хронические заболевания желудочно-кишечного тракта 15,5%(9), заболевания мочевыделительной системы 5,2%(3), хронический тонзиллит отмечен у 3,4%(2) больных. Заболевания сердечнососудистой системы составили у пациенток с III-IV стадиями НГЭ – 3,3%(1), а варикозная болезнь у пациенток 1-й группы – 3,6%(1). Структура экстрагенитальных заболеваний у наблюдаемых пациенток представлена в таблице 16, рисунок 3.

Таблица 16 – Экстрагенитальные заболевания

Нозология	Клинические группы					
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Заболевания сердечнососудистой системы	0	0	1	3,3	0	0
Заболевания мочевыделительной системы	2	7,1	1	3,3	2	6,6
Хронические заболевания ЖКТ	3	10,7	6	20	1	3,3
Варикозная болезнь	1	3,6	0	0	0	0
Эндокринопатии	8	28,6	2	6,6	12	40
Хрон. тонзиллит	2	7,1	0	0	2	6,6

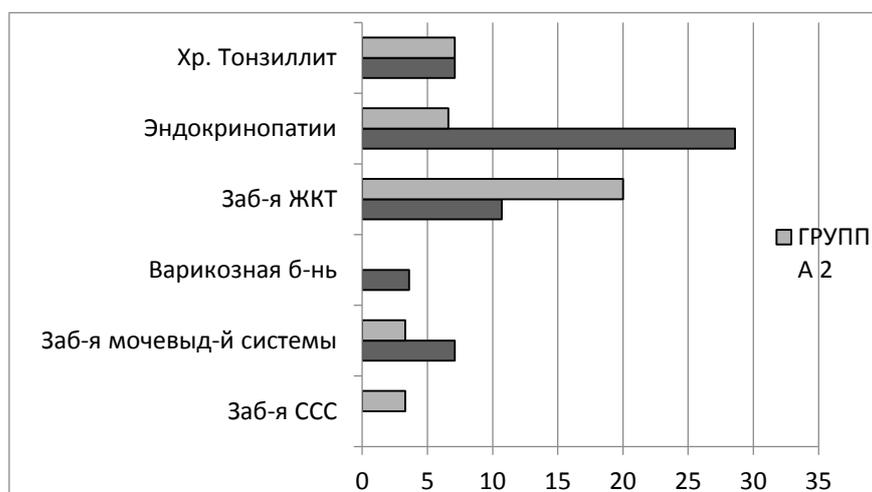


Рисунок 3 – Экстрагенитальные заболевания

Врожденная дисфункция коры надпочечников была обнаружена у 2(7,1%) больных с I-II стадиями НГЭ и у 1(3,3%) пациентки контрольной группы (таблица 17). Гиперпролактинемия в стадии компенсации была выявлена у 3,6%(2) пациенток 1-й группы, у 3,3%(1) больных 2-й группы и 6,7%(2) пациенток 3-й

группы. Синдром гиперандрогении в стадии компенсации имел место у 7,1%(2) больных с I-II стадиями НГЭ и у 16,7%(5) пациентов контрольной группы. Патология щитовидной железы выявлена у 3(10%) пациенток контрольной группы, у 2(7,1%) – 1-й группы и у 1(3,3%) – 2-й группы.

Таблица 17 – Характер эндокринно-обменных нарушений у пациенток с НГЭ

Нозология	Клинические группы					
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Патология щитовидной железы	2	7,1	1	3,3	3	10
ВДКН, компенсация	2	7,1	0	0	1	3,3
Гиперпролактинемия (стадия компенсации)	2	3,6	1	3,3	2	6,7
Синдром гиперандрогении (стадия компенсации)	2	7,1	1	3,3	5	16,7

Течение настоящего заболевания

Анализируя длительность заболевания от начала клинических проявлений до 1-ой госпитализации, мы сделали вывод, что этот период составил от 3 месяцев до 8 лет.

На этапе клинического обследования особое внимание обращали на жалобы больных и данные анамнеза в сравниваемых группах. У пациенток, как правило, одновременно выявлялись 2-3 жалобы.

Обращает на себя внимание, что у 63,7%(37) больных с НГЭ имели место периодические боли перед началом или во время менструации, обильные, длительные менструации у 19%(11), диспареуния 13,8%(8) (таблица 18).

Таблица 18 – Частота клинических проявлений НГЭ

Симптомы	Частота (%)
----------	-------------

Бесплодие	70,7(41)
Газовая боль	32,7(19)
Дисменорея	63,7 (37)
Меноррагия	19 (11)
Диспареуния	13,8 (8)
Скудные кровянистые выделения до и после менструации	17,2 (10)

Частота эндометриoidных кист в нашем исследовании оказалась наиболее высокой (50%), что подтверждает несвоевременность диагностики эндометриоза яичников (таблица 19).

Таблица 19 – Частота различных локализаций эндометриoidных поражений (%)

Локализация	Количество больных, %
Яичники	
Поверхностные очаги	32,7(19)
Глубокие (эндометриомы)	50(29)
Брюшина	
Крестцово-маточные связки	69(40)
Яичниковые ямки	63,7(37)
Пузырно-маточное углубление	22,4(13)
Прямокишечно-маточное углубление	74,1(43)
Маточные трубы	8,6(5)
Кишечник	5,2(3)

Поверхностные очаги эндометриоза на яичниках были обнаружены в 32,7% случаев. Наружная поверхность эндометриoidных кист неровная, белесая, покрыта спайками, с геморрагическими наложениями. Толщина стенок кист неравномерная, после удаления эндометриoidной гетеротопии остается ткань с функциональными элементами фолликулов и с наличием желтых тел. При гистологическом исследовании у 13,5%(10) пациенток с двусторонними эндометриомами были обнаружены желтые тела. Обращает на себя внимание

обнаруженный факт нами во время лапароскопии – наличие большого количества подкапсулярных желтых тел у 40% (20) пациенток с ЭКЯ.

На брюшине малого таза эндометриоз был обнаружен: в 69% случаев на крестцово-маточных связках, в прямокишечно-маточном углублении – 74,1% случаев, тогда как в пузырьно-маточном пространстве очаги были в 22,4% случаев.

Миома матки выявлена у 17,8%(5) пациенток с НГЭ I-II стадиями и у 23,3%(7) женщин с НГЭ III-IV стадиями (таблица 20). В контрольной группе данная патология отсутствует. Аденомиоз был выявлен только у 10%(3) пациенток с НГЭ III-IV стадиями и у 7,1%(2) – 1-й группы. Гиперпластический процесс эндометрия выявлен у 82,1%(23) пациенток 1-й группы и у 76,7%(23) больных 2-й группы, тогда как в контрольной группе эта патология была обнаружена у 36,7%(11) женщин, что достоверно ниже по сравнению с пациентками с НГЭ.

Таблица 20 – Сочетание миомы матки, аденомиоза и гиперпластического процесса эндометрия у пациенток с НГЭ, обнаруженные при проведении лапароскопии и гистероскопии

Нозология	Клинические группы					
	1 группа (n=28)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Миома матки	5	17,8	7	23,3	0	0
Аденомиоз	2	7,1	3	10	0	0
Гиперпластический процесс эндометрия	23	82,1	23	76,7	11	36,7

Наличие спаечного процесса разной степени нами было обнаружено у 44,8%(26) пациенток с НГЭ, тогда как в контрольной группе спаечный процесс составил 10%(3). По стадиям спаечного процесса данные представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Спаечный процесс у пациенток с разными стадиями НГЭ

Спаечный процесс (степень)	Стадия НГЭ			
	Женщины с I-II стадиями НГЭ (n=28)		Женщины с III-IV стадиями НГЭ (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%
I	5	17,8	0	0
II	4	14,3	3	10
III	0	0	9	30
IV	2	7,1	3	10

По мере увеличения стадии заболевания – увеличивается процесс спайкообразования. Имеет место типичный характер спайкообразования: между яичниками и брюшиной яичниковой ямки, между брюшиной прямокишечно-маточного углубления и яичником. Обращает на себя внимание наличие выраженного спаечного процесса III и IV степени, обнаруженного нами у пациенток с III-IV стадиями НГЭ (III степень – 30%, IV – 10%), а также наблюдалась облитерация позади-маточного пространства в 50%(29) случаев, из них частичная составила – 29,3%(17), полная – 20,7%(12).

С целью верификации диагноза выполнено 13(22,4%) биопсий яичников, 42(72,4%) – брюшины малого таза, у 54(93,1%) больных проведена коагуляция очагов эндометриоза, у 29 (50%) пациенток - удаление кист яичников (размеры кист составили от 3 до 10 см в диаметре) (таблица 22).

Таблица 22 – Виды и удельный вес хирургических пособий при эндоскопических вмешательствах (абс., %)

Вид хирургического пособия	Стадия НГЭ				Всего (n=58)	
	I-II стадия (n=28)		III-IV стадия (n=30)			
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Коагуляция очагов Э.	28	100	26	86,7	54	93,1
Энуклеация кист яичников	5	17,3	24	82,7	29	50
Биопсия яичников	4	14,3	9	30	13	22,4

Также по нашим данным, образование кист в правом яичнике составило

36,2%(21), в левом – 25,8%(15). Монолатеральное поражение яичников составило 34,5%(20), билатеральное – 13,8%(8).

У 23 пациенток контрольной группы была выполнена диагностическая лапароскопия с целью исключения трубно-перитонеального фактора бесплодия, у 6 – проведена лапароскопически ассистируемая неовагинопластика по Brucker/Wallweiner, 1 пациентке, имеющей четверых детей, подписавшей информированное согласие, выполнена стерилизация.

Таким образом, как следует из анамнеза, время наступления менархе и продолжительность менструального цикла у пациентов с НГЭ не отличаются от пациенток контрольной группы. Различие заключается в продолжительности менструации, которая длилась больше 5 дней у 41,3% (24) больных с НГЭ.

Более чем у половины пациенток с НГЭ (63,7%(37)) была обнаружена дисменорея, причем при I-II стадиях у 50%, а при III-IV – у 76,7% больных.

Важно подчеркнуть то, что в группах с НГЭ имеет место не только первичное бесплодие (51,7%(30)), но и вторичное бесплодие (18,9%(11)), хотя преобладает первичное. Обращает на себя внимание больший (64,3%(18)) процент первичного бесплодия у пациенток с минимальными проявлениями НГЭ, тогда как при более тяжелом поражении оно обнаружено только у 40% (12) женщин. Приблизительно в 3 раза реже имело место вторичное бесплодие у пациенток с НГЭ и по клиническим группам составило 21,4% (6) и 16,6% (5) соответственно.

В первой клинической группе при I-II стадиях НГЭ у 60,7% (17) больных первичное бесплодие менее 5 лет, тогда как у пациенток с III-IV стадиями заболевания только у 33,3% (10). Бесплодие более 5 лет как при первичном, так и при вторичном бесплодии имело место от 3,6 до 6,7%.

Обращает на себя внимание тот факт, что 14,3% (4) женщин с минимальными проявлениями эндометриоза и 43,3%(13) с более тяжелыми поражениями использовали методы оральной гормональной контрацепции.

Назначение комбинированных оральных контрацептивов у молодых девушек для лечения дисменореи коррелирует с повышением диагностирования глубокого эндометриоза в будущем (Chapron C. et al., 2011).

Синдром тазовых болей имел место у 32,7% (19) пациенток, дисменорея у 63,7%(37), диспареуния 13,8%(8), меноррагии у 19%(11) и кровянистые выделения у 17,2% (10) женщин.

Обращает на себя внимание, что практически у 50% больных в группах женщин с эндометриозом были обнаружены эндометриодные кисты яичников различного диаметра.

3.2. Протеомный анализ перитонеальной жидкости при наружном генитальном эндометриозе

Учитывая особую роль в формировании и развитии эндометриоза процессов, происходящих на локальном уровне, **на первом этапе** проводили качественный протеомный анализ перитонеальной жидкости женщин с наиболее выраженным (III-IV стадиями) НГЭ и пациенток контрольной группы. Сопоставление обзорных двумерных протеомных карт перитонеальной жидкости женщин контрольной и 3-й группы позволяет выявить дифференциально-экспрессирующиеся белки (белки отличия) при изучаемой патологии.

Протеомный профиль перитонеальной жидкости характеризуется значительной гетерогенностью (до 260 электрофоретических фракций с диапазонами молекулярных масс от 10 до 130 кДа и границами изоэлектрических точек от 5,0 до 8,5). Большинство белков обнаруживается как у пациенток контрольной группы, так и у пациенток с эндометриозом. В тоже время выявлен ряд белков отличия, присутствие или отсутствие которых имеет место только при НГЭ.

В протеомном спектре перитонеальной жидкости при эндометриозе отсутствуют 11 белков, из которых идентифицировано 5: фактор дифференцировки пигментного эпителия (PEDF), транстиретин, гаптоглобин, α -1-антитрипсин и ингибитор апоптоза 6 (таблица 23, рисунок 4). Количество

загрузочного белка не идентифицированных белковых пятен было ниже порога чувствительности MALDI-TOF-масс-спектрометра.

Таблица 23 – Идентифицированные белки перитонеальной жидкости женщин контрольной группы и женщин с НГЭ

№	Название белка	№ в базе Swiss-Prot	Мм, кДа	pI	Контр. группа	НГЭ	p
1	Alpha-1-antitrypsin (α -1-антитрипсин)	P01009	58.6	5.4	+	–	0.011
2	Pigment epithelium-derived factor (Фактор дифференцировки пигментного эпителия)	P36955	48.8	5.7	+	–	0.021
3	Complement C3 (Компонент комплимента C3)	P01024	48.8	8.4	–	+	0.031
4	Apolipoprotein A-IV (Аполипопротеин А-IV)	P06727	45.1	5.5	–	+	0.003
5	Haptoglobin (Гаптоглобин)	P00738	44.4	5.5	+	–	0.003
6	Sex hormone-binding globulin (ГСПГ)	P04278	44.3	5.6	–	+	0.011
7	Apoptosis inhibitor 6 (Ингибитор апоптоза 6)	O43866	21.3	5.9	+	–	0.001
8	Complement C4-b (Компонент комплимента C4-b)	P0C0L5	21.3	6.6	–	+	0.026
9	Haptoglobin (Гаптоглобин)	P00738	18.9	6.0	+	–	0.033
10	Transthyretin (Транстиретин)	P02766	12.6	5.5	+	–	0.000

Примечание: pI - изоэлектрическая точка, Мм-молекулярная масса, «+» - присутствие белка, «–» - отсутствие белка, p – достоверность отличий между группами.

При НГЭ в перитонеальной жидкости обнаружены следующие белки – Апо-АIV, ГСПГ, компоненты комплемента С3 и С4-в.

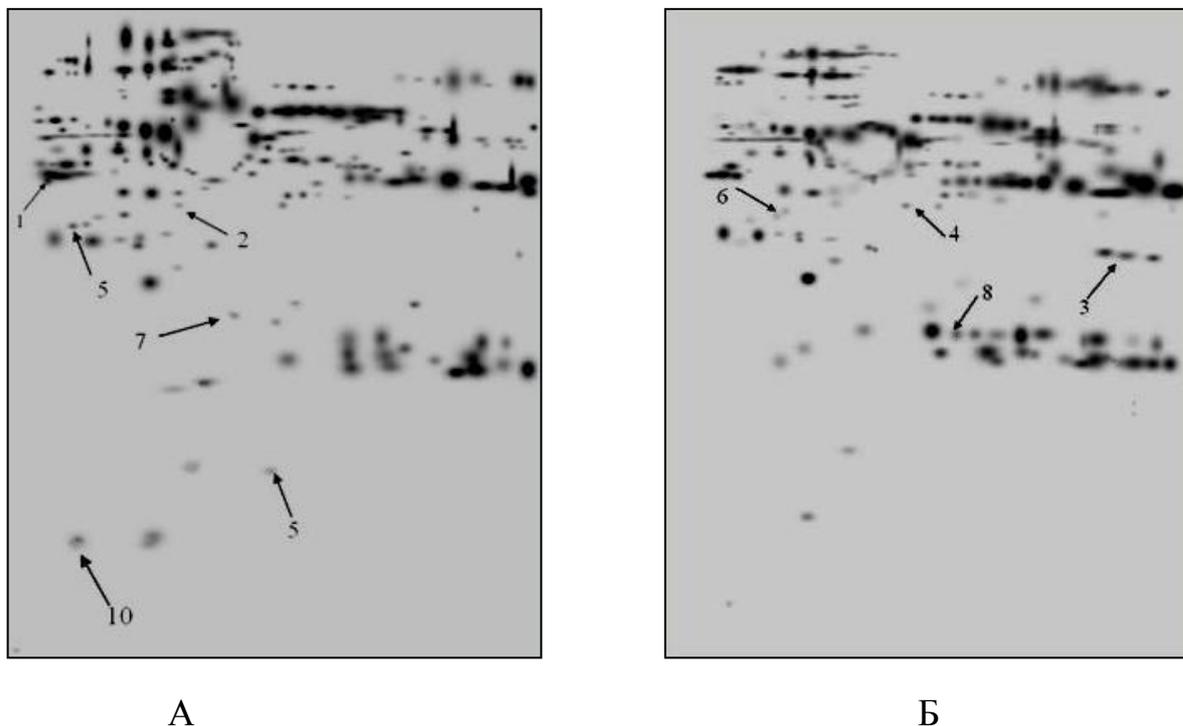


Рисунок 4 – Протеомные карты перитонеальной жидкости женщин контрольной группы (А) и женщин с НГЭ (Б).

Примечание. Нумерация белков соответствует таковой в таблице.

Оценив основные функции этих белков, можно составить определенное представление о последствиях подавления или активации их экспрессии на развитие эндометриоза.

Белки отличия, отсутствующие при НГЭ.

Фактор дифференцировки пигментного эпителия (pigment epithelium-derived factor, PEDF) является одним из наиболее мощных антиангиогенных и антипролиферативных факторов. Этот секретируемый гликопротеин относится к семейству ингибиторов сериновых протеиназ. Данный фактор участвует в комплексном сбалансированном контроле ангиогенеза, противодействуя эффекту ангиогенных факторов, прежде всего СЭФР и оФРФ (Dawson D.W. et al., 1999; Filleur S. et al., 2009). В настоящее время выясняется механизм антиангиогенного эффекта PEDF.

Эндотелиальные клетки обладают положительным хемотаксисом в отношении ангиогенных факторов. Соответственно один из предположительных механизмов такого действия PEDF заключается в ингибировании хемотаксиса эндотелиальных клеток, образующих стенки кровеносных сосудов, по отношению ко всем исследованным ангиогенным факторам – СЭФР, фактор роста тромбоцитов, ИЛ-8 и др. (Dawson D.W. et al., 1999; Chuderland D. et al., 2014).

По другим данным, причиной антиангиогенного эффекта PEDF является апоптоз эндотелиальных клеток (Gettins P.G. et al., 2002). Характерной особенностью этого фактора является селективное влияние только на развивающиеся сосуды, повреждения уже существующих он не вызывает (Минкевич Н.И. и соавт., 2010). Причиной такого избирательного действия служит инициация апоптоза, опосредованная FAS-лигандом. Показано, что PEDF индуцирует выработку эндотелиальными клетками Fas-лигандов, что при наличии достаточной плотности FAS-рецепторов ведет к FAS-индуцированному апоптозу клеток развивающихся сосудов (Broadhead M.L. et al., 2010). По другим данным, основным механизмом антиапоптозного действия PEDF на клетки является активация транскрипционного фактора NF-κB (Hirsch J. et al., 2011).

Действие PEDF в клетках эпителия яичников в значительной степени регулируется эстрогенами. Обработка культивируемых клеток 17β -эстрадиолом снижает экспрессию фактора и его мРНК, угнетая транскрипцию гена. Эпигенетические изменения, такие, как гиперметилование промотора, могут служить альтернативным механизмом регуляции уровня экспрессии фактора (Cheung L.W. et al., 2006). Насыщение тканей кислородом влияет на концентрацию PEDF: гипероксигенация стимулирует выработку фактора, гипоксия, напротив, угнетает ее.

Установленное нами отсутствие PEDF можно объяснить повышением содержания СЭФР в перитонеальной жидкости при эндометриозе (Ермолова Н.В., 2009, Gilabert-Estelles J. et al., 2007). Увеличение синтеза последнего в условиях локальной гипоксии при вышеуказанной патологии индуцирует продукцию

матриксных металлопротеиназ 2 и 9, которые расщепляют PEDF, связанный с компонентами внеклеточного матрикса (Минкевич Н.И. и соавт., 2010).

Подавление экспрессии PEDF при эндометриозе может быть одной из причин, приводящих к снижению эндометриального апоптоза и усилению ангиогенеза, способствуя имплантации и росту гетеротопий.

Что касается **транстиретина** (тироксин-связывающий преальбумин), осуществляющего транспорт тиреоидных гормонов, то данный белок выполняет функцию поддержания пула несвязанных T_3 и T_4 в ответ на потребности тканей-мишеней (Свиридов О.В., 1994; Поленок Е.Г. и соавт., 2010; Robbins J., 1992; Richardson S.J., 2007).

Для нормального функционирования практически всех органов и систем, в том числе и репродуктивных, необходим адекватный уровень тиреоидных гормонов (Бердашкевич И.В. и соавт., 2008; Качалина Т.С. и соавт., 2011). Тесная связь гипоталамо-гипофизарно-яичниковой и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной систем осуществляется благодаря наличию центральных механизмов регуляции. В настоящее время доказано, что эстрогены оказывают на щитовидную железу выраженное стимулирующее действие, прежде всего за счет интенсификации синтеза ТТГ. Опосредованную роль в развитии эндометриоидных очагов отводят дисфункции щитовидной железы. Гиперэстрогенемия, сопровождающая развития эндометриоза, ведет к уменьшению концентрации тиреоидных гормонов в крови. Длительно персистирующее это состояние в условиях тканевой гипоксии при субклиническом и клиническом гипотиреозе приводит к хронической стимуляции и пролиферации патологических очагов в эндомиометрии и миометрии (Перминова С.Г., 2006; Kayisli U.A. et al., 2002). Таким образом, гормоны щитовидной железы опосредованно участвуют в патогенезе НГЭ (Адамян Л.В. и соавт., 2006; Пашков В.М. и соавт., 2007). Кроме того, обсуждается вопрос о корреляции между функциональной активностью щитовидной железы и концентрацией в сыворотке крови ГСПГ (Brenta G. et al., 1999).

Отсутствие транстиретина в перитонеальной жидкости, по-видимому, создает локальный избыток гормонов щитовидной железы, токсическое действие

которых приводит к поражению репродуктивных органов. Тиреоидные гормоны, модулируя эффекты эстрогенов на клеточном уровне, могут способствовать развитию нарушений гисто- и органогенеза гормоночувствительных структур и ухудшению течения эндометриоза (Ищенко А.И. и соавт., 2002).

Среди белков, не выявленных в перитонеальной жидкости, важные функции выполняет секретируемый макрофагами **ингибитор апоптоза 6** (apoptosis inhibitor 6, Aip6, также называемый Spα). Он играет важную роль в регуляции иммунного ответа: подавляет апоптоз Т-лимфоцитов и NK-клеток, а также блокирует продукцию иммуноглобулинов (Sarrias M.R. et al., 2005; Li Y. et al., 2011).

Результаты исследований показали, что при эндометриозе на локальном уровне наблюдается уменьшение активности Т-лимфоцитов и NK-клеток, приводящее к уменьшению цитотоксичности к эктопически расположенному эндометрию (Berkkanoglu M. et al., 2003). Дефицит активности Т-лимфоцитов может способствовать имплантации и развитию заносимых в брюшную полость эндометриоидных клеток. В свою очередь развитие очагов эндометриоза повышает выработку иммуносупрессивных агентов, которые определяют дальнейшее понижение активности NK-клеток, ослабление иммунного контроля и прогрессирование данного заболевания (Пашков В.М. и соавт., 2007).

Очевидно, именно нарушение экспрессии Aip6 приводит к формированию вышеописанного дисбаланса иммунокомпетентных клеток в перитонеальной жидкости.

Гаптоглобин – секретируемый гликопротеин, который связывает с высокой аффинностью гемоглобин, поддерживая тем самым резерв железа и защищая клетки от окислительного повреждения (Wassell J., 2000). Гаптоглобин и его комплексы с гемоглобином гидролизуют пероксиды, освобождающиеся в процессе действия фагоцитов, а также ингибирует вазодилатирующее действие оксида азота (Raijmakers M.T. et al., 2003). Свободный гаптоглобин рассматривается как сывороточный ангиогенный фактор, благодаря его вовлеченности в регуляцию процессов пролиферации и дифференцировки

сосудистого эндотелия, кроме того он ингибирует катепсин В, модулирует активность и пролиферацию лейкоцитов в участке воспаления. Кроме того, функциональная роль гаптоглобина в качестве позднего реактанта острой фазы воспаления, может объяснить наличие воспалительных процессов при эндометриозе (Kalsheker N.A., 2009). Показано, что сывороточные уровни при эндометриозе были снижены по сравнению с содержанием, характерным для здоровых женщин, а его уровни в перитонеальной жидкости были в 4 раза ниже, чем в крови больных эндометриозом (Зорина В.Н. и соавт., 2010).

Учитывая роль **гаптоглобина** как неферментативного антиоксиданта, можно полагать, что его отсутствие в перитонеальной жидкости вносит вклад в усиление окислительного стресса, развивающегося при эндометриозе.

При указанной патологии в перитонеальной жидкости также не обнаружен **α -1-антитрипсин** – основной представитель семейства ингибиторов сериновых протеаз (таких как нейтрофильная эластаза, коллагеназа и др.), которые непосредственно вовлечены в процессы инвазии эндометриальных клеток. По данным литературы, при эндометриозе имеют место существенные сдвиги в показателях активности многих протеолитических ферментов (Герасимов А.М., 2005). По данным Дедуль М.И. и соавт. (2006) активность системы протеиназ при эндометриозе нарушена главным образом за счет ингибиторного потенциала. По-видимому, это может быть связано с нарушением баланса в системе протеаза-ингибитор в сторону недостатка последнего. Большой интерес, на наш взгляд, представляют функции белков отличия, обнаруженных нами при НГЭ в перитонеальной жидкости.

Так, **аполипопротеин AIV** (Апо-AIV) – основной структурный компонент ЛПВП и хиломикронов (Deng X., 2012), играющий определенную роль в секреции и катаболизме хиломикронов и ЛПОНП (Kohan A.B. et al., 2012). Он является мощным активатором лецитинхолестеринацилтрансферазы и липопротеинлипазы, ферментов имеющих большое значение в метаболизме липопротеинов (Spaulding H.L. et al., 2003). Апо-AIV также обладает антиоксидантной активностью, ингибируя перекисное окисление липидов (Wong W.M. et al., 2007). Указанный

белок участвует в регуляции внутриклеточного баланса окисленного/восстановленного глутатиона и модуляции редокс-зависимого апоптоза путем стимуляции активности глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (Spaulding H.L. et al., 2003).

Апо-AIV является высокочувствительным PPARalpha-регулируемым геном. (Nagasawa M. et al., 2009). Индукция экспрессии Апо-AIV может быть одним из механизмов, который лежит в основе повышения уровня ЛПВП, обладающих противовоспалительными свойствами. Так, Колесникова Л.В. и соавт. (2011) показали, что содержание ЛПВП увеличено при эндометриозе.

Усиление продукции (и, как следствие, появление в перитонеальной жидкости) Апо-AIV, принимая во внимание его функции, очевидно, имеет компенсаторное значение в условиях окислительного стресса и воспаления, сопровождающих развитие данной патологии.

Главной функцией **глобулина, связывающего половые гормоны, (ГСПГ)** является транспорт стероидных гормонов (эстрогенов и андрогенов) и регуляция их биодоступности для тканей-мишеней (Hammond G.L., 2011). ГСПГ связывает тестостерон и 5-дигидротестостерон с высоким сродством и эстрадиол несколько слабее. При снижении продукции андрогенов увеличение продукции ГСПГ обуславливает сохранение на постоянном уровне общего тестостерона, хотя концентрация свободного гормона снижается.

В последние годы накоплены сведения, что ГСПГ функционирует как часть новой стероидной-сигнальной системы, независимой от классических внутриклеточных стероидных рецепторов. В отличие от внутриклеточных стероидных рецепторов, которые действуют как лигандом-активированные факторы транскрипции, ГСПГ влияет на андрогены и эстрогены через цАМФ, выступая в качестве ее активатора посредством взаимодействия со своим специфическим, высокоаффинным рецептором на поверхности клеточных мембран (Kahn S.M. et al., 2002).

Гиперэкспрессия межклеточного ГСПГ в эндометриодной ткани является результатом формирования эстроген-преобладающей среды, так как эстрогены

усиливают синтез этого белка. Связанный с ГСПГ эстроген защищен от катаболизма в печени и доступен для клеток эндометрия, что способствует развитию эндометриоза (Misao R. et al., 1998).

Повышенное содержание при изучаемом заболевании ГСПГ, играющего роль своеобразного депо стероидных гормонов в перитонеальной жидкости, создает условия для локальной гиперэстрогении (Адамян Л.В. и соавт., 2006). В этих условиях становится возможным усиление пролиферативного потенциала клеток эндометриоидных гетеротопий.

Что касается появляющихся в перитонеальной жидкости женщин 2-й группы **компонентов системы комплемента C3 и C4-b**, то они играют важную роль в поддержании врожденного и адаптивного иммунного ответа, в том числе гуморального и клеточного иммунитета (Lebovic, D.I. et al., 2001; Rus. H. et al., 2005). C3 — центральный компонент системы комплемента, белок острой фазы воспаления, составляющий около 70% всех белков системы комплемента. Содержание C3 участвует в классическом и альтернативном пути активации системы комплемента, C4-b — только в классическом пути. (Xu Y. et al., 2001; Reis E.S. et al., 2006; Bouwman L.H. et al., 2006). Компоненты комплемента C3 и C4-b играют ключевую роль в адаптивном иммунитете путем модуляции и изменения Т-клеточного ответа.

Компоненты C3 и C4-b секретируются в перитонеальной жидкости активированными макрофагами, а также эктопическим эндометрием (Bischof P. et al., 1994; Kabut J. et al., 2007). Содержание C3 в эндометрии, по-видимому, регулируется гормонами в зависимости от менструального цикла; оно низкое во время фолликулярной фазы менструального цикла и повышено в лютеиновой фазе (Sayegh R.A. et al., 2004; Rus H. et al., 2005). В исследованиях Тао Х.Д. и соавт. (1997) проводилось сравнение экспрессии C3 в эутопическом и эктопическом эндометрии. Так, экспрессия мРНК и белка C3 была значительно выше в эндометриоидных гетеротопиях по сравнению с внутриматочным эндометрием. Isaacson K.B. et al. (1990) пришли к выводу, что железистые эпителиальные клетки, находящиеся в очагах эндометриальных имплантатов,

продуцируют и секретируют С3. Кроме того, у пациентов с минимальным эндометриозом вырабатывается в эндометрии значительно большее количество С3, чем у пациентов без эндометриоза или пациентов с выраженной стадией заболевания (Isaacson K.V. et al., 1990).

Указанные компоненты системы комплемента, очевидно, играют важную роль в нормальной репродуктивной функции. Активация системы комплемента и гуморального иммунитета имеет определенное значение в механизме потери плода при эндометриозе (Tomassetti C. et al., 2006). Кроме того, эти секреторные продукты оказывает негативное влияние на фертильность женщин с эндометриозом (Bedaiwy M.A. et al., 2002).

Выявленная динамика компонентов С3 и С4-в согласуется с результатами ряда авторов, которые также показали, что уровень этих белков значительно увеличивается в перитонеальной жидкости при эндометриозе, а также в сыворотке женщин с эндометриозом по сравнению показателями у здоровых женщин (Iborra A. et al., 2000; Kamer-Bartosinska A. et al., 2003; Matarese G. et al., 2003). Причиной повышенной активации системы комплемента при вышеуказанном заболевании может быть нарушение ее регуляции.

Усиление секреции компонентов комплемента, являющихся непосредственными участниками воспалительной реакции и обезвреживания апоптозных клеток, а так же иммунных комплексов (Blatteis C.M. et al., 2004; Rus H. et al., 2005), вносит определенный вклад в механизмы развития эндометриоза и эндометриоз-ассоциированного бесплодия.

Приведенные данные подтверждают представление о том, что перитонеальная жидкость не является пассивной средой, а играет активную роль в развитии этой патологии. Сложная система местных растворимых перитонеальным факторов, прежде всего белковых, оказывает влияние внутриклеточные процессы и межклеточное взаимодействие, создавая условия для выживания и развития эндометриальных клеток за пределами слизистой оболочки матки. Выполненные протеомные исследования свидетельствуют о том, что развитие эндометриоза происходит на фоне изменения продукции ряда

важных белков, участвующих в регуляции действия гормонов, редокс-процессов, апоптоза, ангиогенеза, воспаления и иммунного ответа.

3.3. Определение содержания в сыворотке крови и перитонеальной жидкости белков отличия, обнаруженных при наружном генитальном эндометриозе

На втором этапе исследования методом ИФА в перитонеальной жидкости и сыворотке крови пациенток всех групп были определены количественные показатели белков отличия, для которых при изучаемой патологии обнаружена повышенная экспрессия: Апо-АIV, ГСПГ, С3 и С4-в.

Содержание Апо-АIV в сыворотке крови при I-II и III-IV стадиях НГЭ было увеличено на 14,7% ($p=0,033$) и 11,6% ($p=0,014$), соответственно, по сравнению с аналогичными величинами в контрольной группе (таблица 24, 25, рисунок 5, 6).

Таблица 24 – Содержание белков отличия в сыворотке крови пациенток с I-II стадиями НГЭ и пациенток без эндометриоза

Показатель	Контроль	НГЭ I-II ст.	p
Апо-АIV (мкг/мл)	34,93 [31,16 – 37,81]	40,06 [35,53 –47,17]	0,033
ГСПГ (нмоль/л)	55,49 [43,17-80,79]	96,68 [65,65-121,96]	0,010
С3 (мкг/мл)	8,22 [5,96-8,86]	10,38 [9,29-11,16]	0,050
С4-в (мкг/мл)	0,07 [0,05-0,09]	0,06 [0,05-0,08]	0,600

Примечание. Здесь и в таблицах 25-31 результаты представлены как медиана и межквартильный интервал. p – статистическая значимость различий показателей по сравнению с контрольной группой.

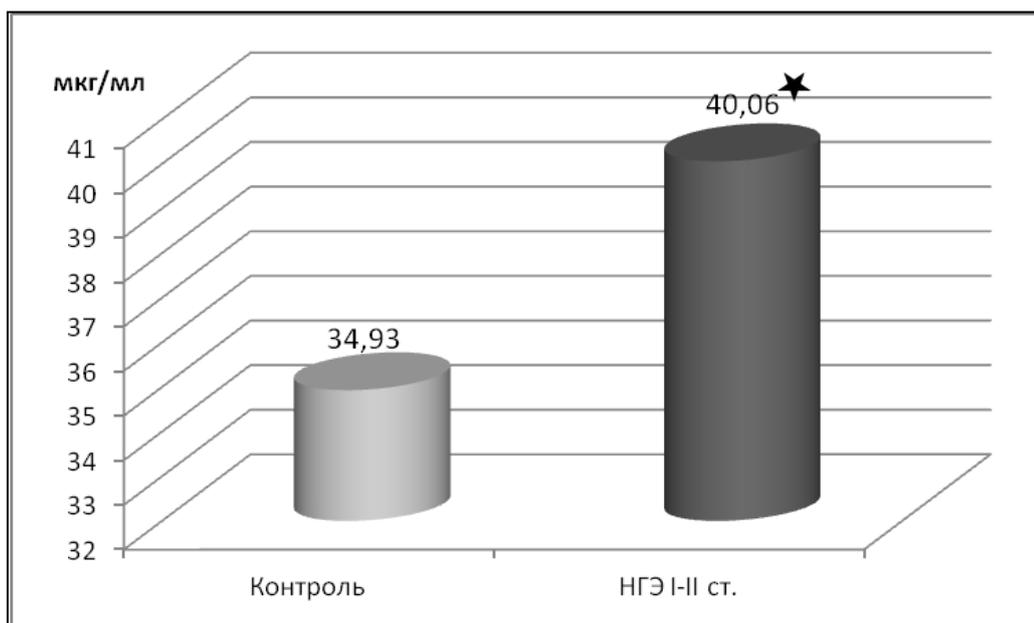


Рисунок 5 – Содержание Апо А-IV в сыворотке пациенток с I-II стадиями НГЭ.

*Примечание. Здесь и на рисунках 6-17 * – отличия достоверны относительно контрольных величин.*

Таблица 25 – Содержание белков отличия в сыворотке крови пациенток с III-IV стадиями НГЭ и пациенток без эндометриоза

Показатель	Контроль	НГЭ III-IV ст.	p
Апо-АIV (мкг/мл)	34,93 [31,16 – 37,81]	38,99 [36,48 – 46,40]	0,014
ГСПГ (нмоль/л)	55,49 [43,17-80,79]	84,44 [64,90-88,04]	0,036
С3 (мкг/мл)	8,22 [5,96-8,86]	10,14 [9,15-11,78]	0,018
С4-b (мкг/мл)	0,07 [0,05-0,09]	0,06 [0,05-0,08]	0,590

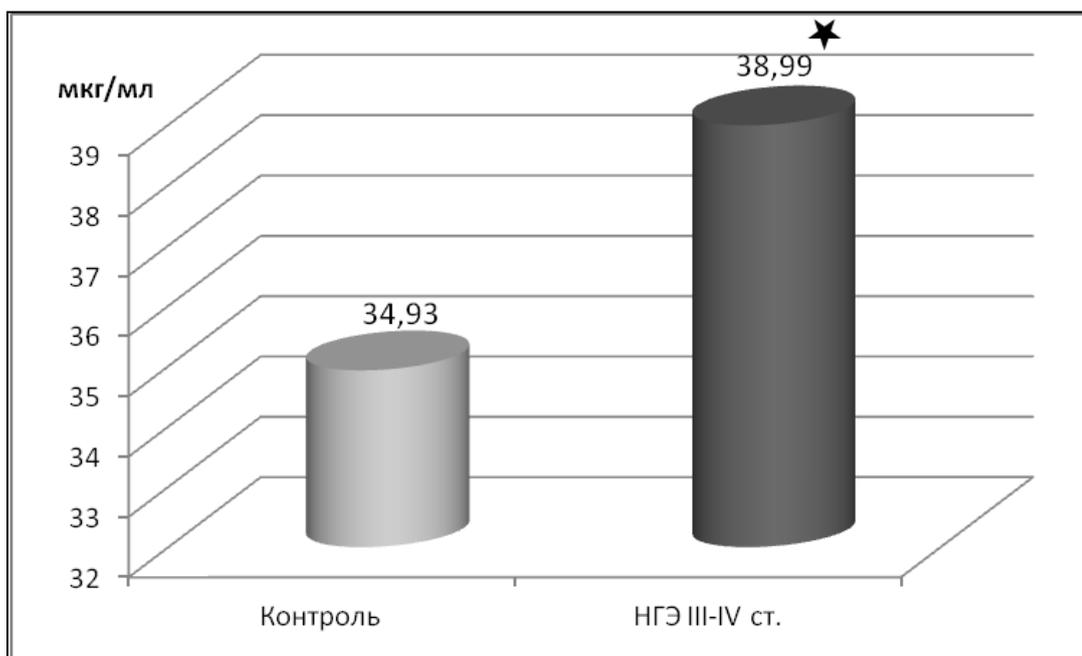


Рисунок 6 – Содержание Апо А-IV в сыворотке пациенток с III-IV стадиями НГЭ.

Сывороточный уровень ГСПГ относительно показателя в контрольной группе также повышается при прогрессировании заболевания: на 74,2% – при I-II стадиях ($p=0,01$) и на 52,2% – при III-IV стадиях ($p=0,036$) (таблица 24, 25, рисунок 7, 8).

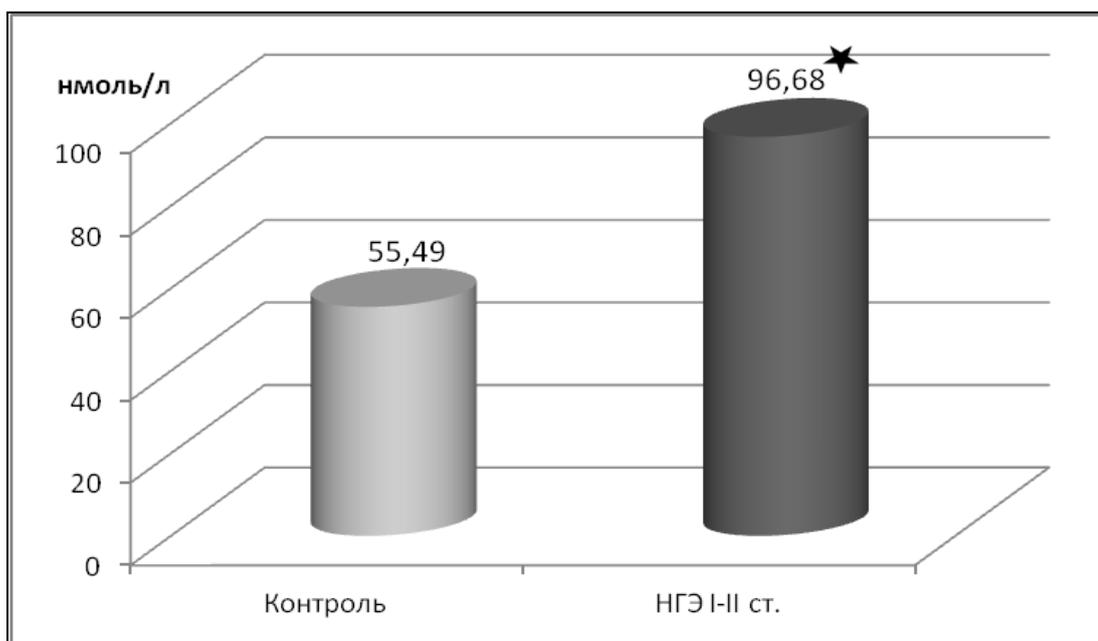


Рисунок 7 – Содержание ГСПГ в сыворотке крови пациенток с I-II стадиями НГЭ.

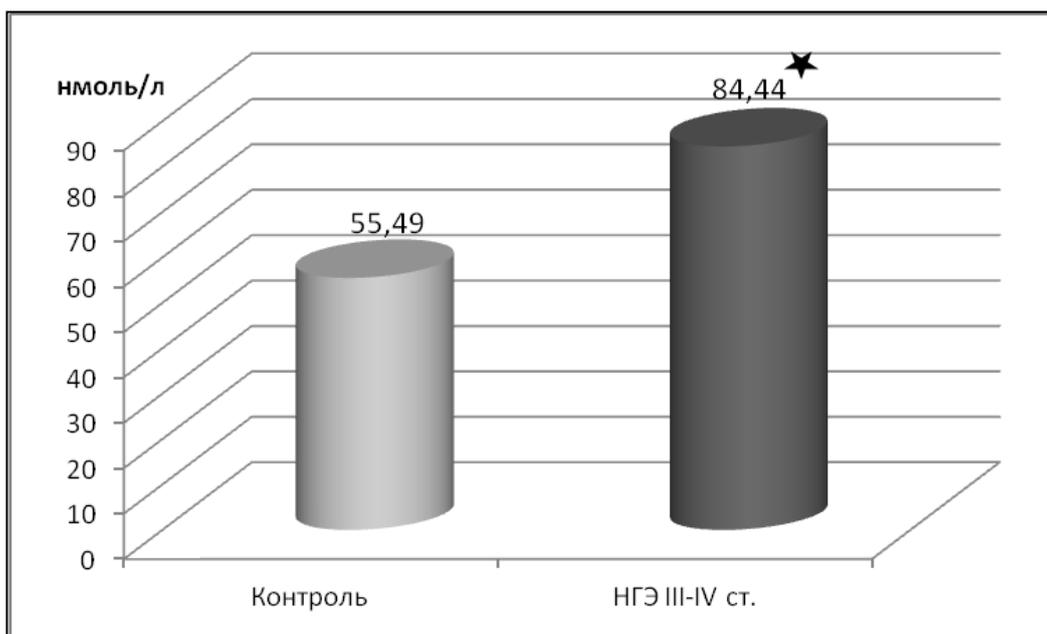


Рисунок 8 – Содержание ГСПГ в сыворотке пациенток с III-IV стадиями НГЭ.

Уровень компонента С3 при III-IV стадиях эндометриоза в сыворотке крови возрастает на 23,4% ($p=0,018$) по сравнению с показателями в контрольной группе (таблица 24, 25, рисунок 9). Следует отметить, что при ранних стадиях заболевания была отмечена тенденция к повышению уровня этого белка в сыворотке крови ($p=0,05$).

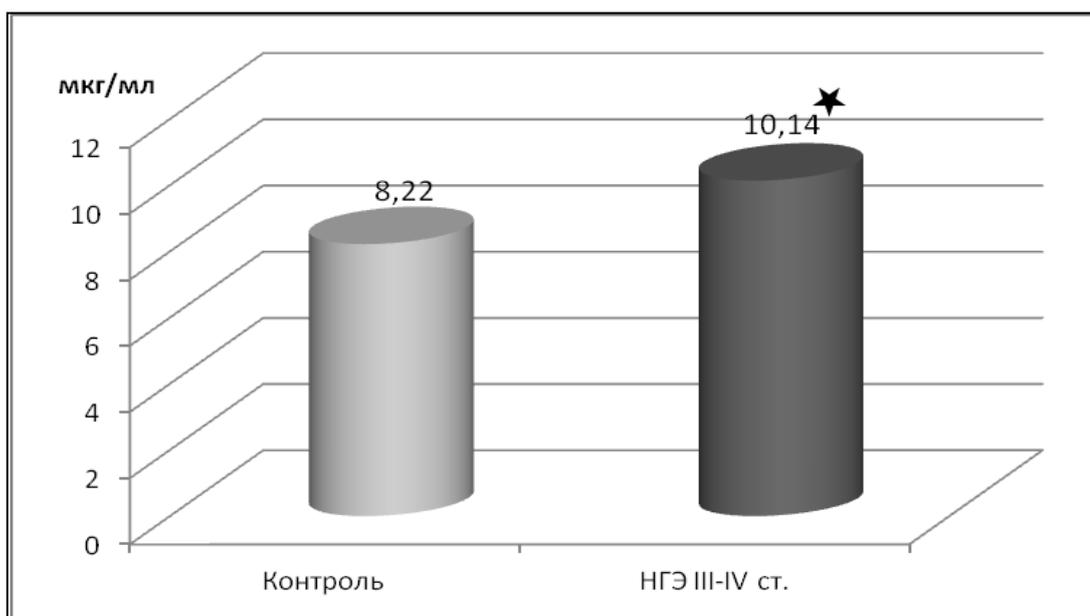


Рисунок 9 – Содержание компонента С3 в сыворотке пациенток с III-IV стадиями НГЭ.

На локальном уровне сохранялась сходная динамика содержания указанных белков. Так, в перитонеальной жидкости установлено повышение уровня Апо-АIV на 27,9% при I-II стадиях НГЭ ($p=0,002$) и 24,4% – при III-IV стадиях ($p=0,031$) по сравнению с соответствующими показателями в контрольной группе (таблица 26, 27, рисунок 10, 11).

Таблица 26 – Содержание белков отличия в перитонеальной жидкости пациенток с I-II стадиями НГЭ и пациенток без эндометриоза

Показатель	Контроль	НГЭ I-II ст.	p
Апо-АIV (мкг/мл)	16,27 [14,63 –18,57]	20,78 [18,58 – 30,68]	0,002
ГСПГ (нмоль/л)	14,62 [10,95-17,00]	18,85 [16,37-24,65]	0,031
С3 (мкг/мл)	1,52 [1,30-2,40]	1,69 [1,48-2,11]	0,529
С4-b (мкг/мл)	0,04 [0,02-0,04]	0,03 [0,03-0,04]	0,727

Таблица 27 – Содержание белков отличия в перитонеальной жидкости пациенток с III-IV стадиями НГЭ и пациенток без эндометриоза

Показатель	Контроль	НГЭ III-IV ст.	p
Апо-АIV (мкг/мл)	16,27 [14,63 –18,57]	20,22 [17,13 –21,62]	0,026
ГСПГ (нмоль/л)	14,62 [10,95-17,00]	20,56 [15,8-28,17]	0,033
С3 (мкг/мл)	1,52 [1,30-2,40]	2,65 [2,20-3,59]	0,001
С4-b (мкг/мл)	0,04 [0,02-0,04]	0,03 [0,028-0,04]	0,917

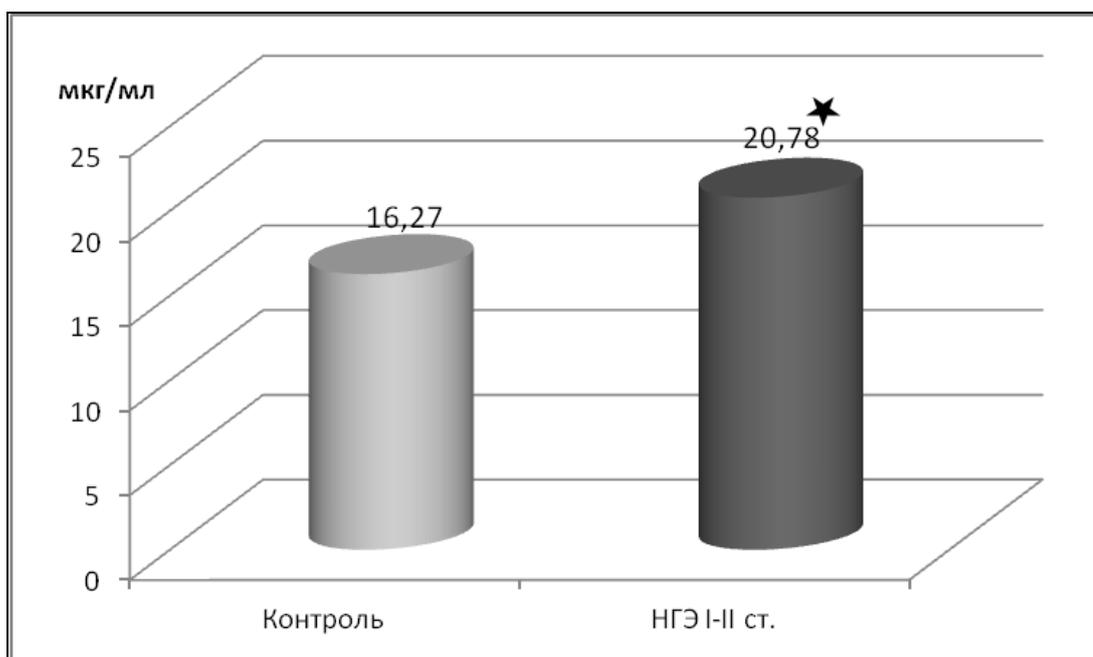


Рисунок 10 – Содержание АпоА-IV в перитонеальной жидкости пациенток с I-II стадиями НГЭ.

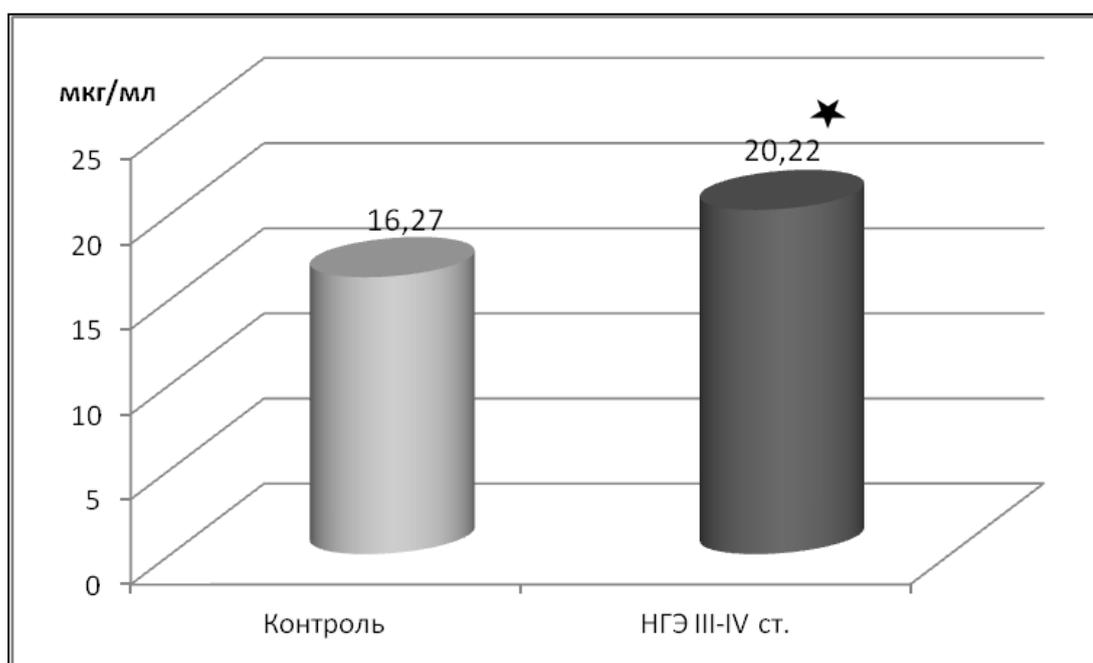


Рисунок 11 – Содержание АпоА-IV в перитонеальной жидкости пациенток с III-IV стадиями НГЭ.

Содержание ГСПГ увеличено в перитонеальной жидкости при I-II стадиях заболевания на 28,9% ($p=0,031$) и при III-IV стадиях – 40,6% ($p=0,033$) (таблица 26,27, рисунок 12, 13).

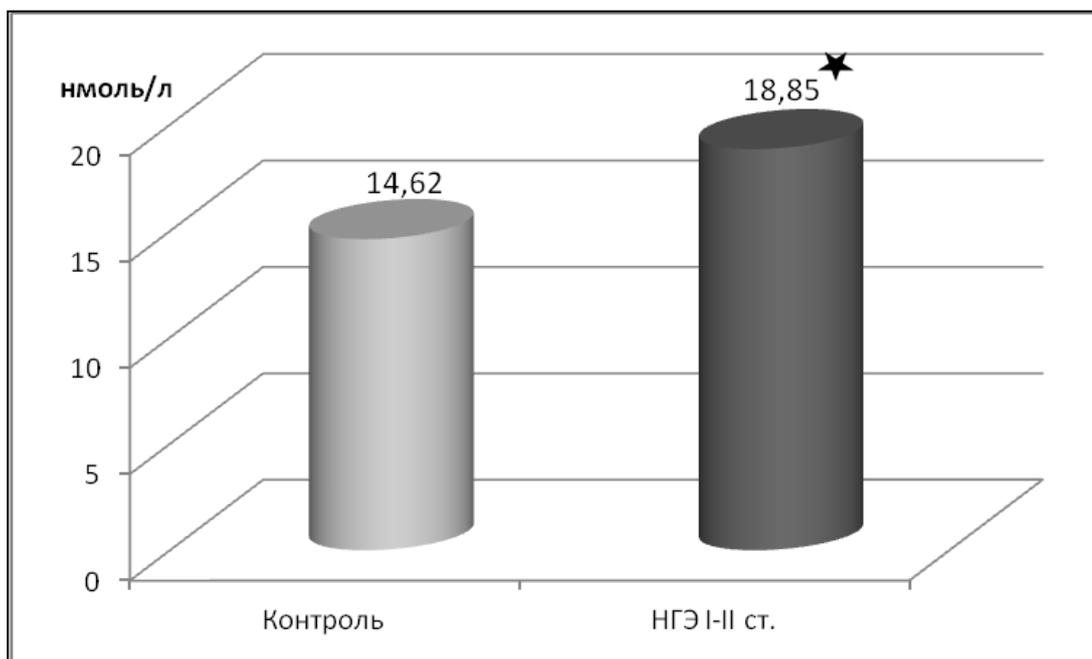


Рисунок 12 – Содержание ГСПГ в перитонеальной жидкости пациенток с I-II стадиями НГЭ.

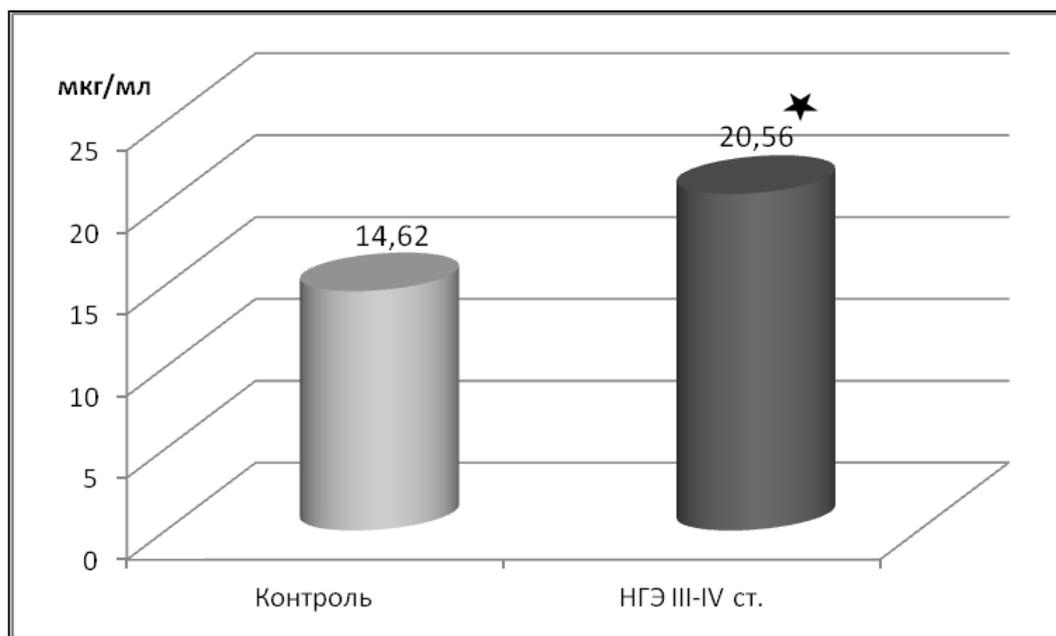


Рисунок 13 – Содержание ГСПГ в перитонеальной жидкости пациенток с III-IV стадиями НГЭ.

В перитонеальной жидкости при III-IV стадиях эндометриоза отмечается повышение содержания СЗ на 74,3% ($p=0,001$) по сравнению с показателем в контрольной группе, в то время как его уровень при I-II стадиях НГЭ достоверно не изменялся (таблица 26, 27, рисунок 14).

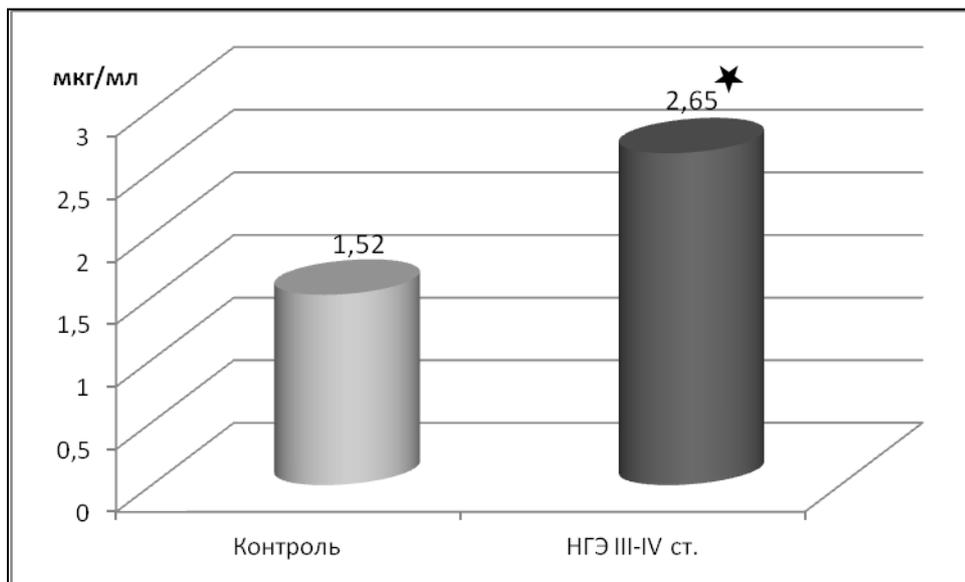


Рисунок 14 – Содержание компонента С3 в перитонеальной жидкости пациенток с III-IV стадиями НГЭ

Достоверных изменений содержания компонента С4-в в сыворотке крови и перитонеальной жидкости как при I-II стадиях, так и при III-IV стадиях при эндометриозе не обнаружено (таблица 24-27).

При сравнительном анализе изменений содержания изучаемых белков при эндометриозе на локальном и системном уровне было обнаружено, что их уровни в перитонеальной жидкости были в той или иной степени снижены по сравнению с аналогичными показателями в сыворотке крови.

Так, концентрация Апо-AIV в перитонеальной жидкости как при I-II, так и III-IV стадиях НГЭ меньше в 1,9 раза его сывороточного уровня. Содержание ГСПГ в перитонеальной жидкости в 5,1 раза ниже при I-II стадиях НГЭ и 4,1 раза – III-IV стадиях, чем в сыворотке крови. Уровень компонента С3 также был снижен в перитонеальной жидкости по сравнению с таковым в сыворотке крови при III-IV стадии заболевания (в 3,8 раза).

Следует отметить, что однонаправленные изменения содержания указанных белков в сыворотке крови и перитонеальной жидкости, свидетельствуют об общих молекулярных механизмах модификации их экспрессии как на системном, так и локальном уровнях.

3.4. Содержание клеточных регуляторов в перитонеальной жидкости и сыворотке крови при наружном генитальном эндометриозе

С учетом полученных данных исследования белков отличия в перитонеальной жидкости и сыворотке крови у пациенток с НГЭ и женщин контрольной группы, а также значения их в реализации процессов ангиогенеза и апоптоза, мы посчитали целесообразным усилить этот фрагмент нашей работы изучением маркеров (СЭФР, СЭФР-R1, FASL) этих патологических процессов.

Ангиогенез является одним из основных компонентов развития и прогрессирования пролиферативных процессов. В связи с этим большой интерес представляет изучение различных биологически-активных факторов, контролируемых ангиогенные процессы при НГЭ.

Одним из ведущих факторов, запускающих и усиливающих процессы неоангиогенеза, является СЭФР. Он является мощным митогеном и хемоаттрактантом для эндотелиальных клеток, стимулирует синтез и высвобождение протеаз и фактора Виллебранда эндотелиальными клетками. Кроме того, СЭФР индуцирует экспрессию на эндотелиальных клетках молекул адгезии (ICAM-1 и VCAM-1), а также увеличивает жизнеспособность эндотелиальных и эндометриальных клеток, защищая их от ФНО- α -индуцированного апоптоза и повышая экспрессию антиапоптозного белка Bcl-2 (Кондратьева П.Г., 2010).

Рецепторы СЭФР являются тирозинкиназами и экспрессированы преимущественно на эндотелиальных клетках (Fong G. et al., 1995). Так, отсутствие СЭФР-R1 вызывает нарушение структурности эндотелия, а при отсутствии СЭФР-R2 у мышей наблюдалось нарушение дифференцировки эндотелиальных клеток (Charnock-Jones D.S. et al., 1999). СЭФР регулирует выработку различных факторов роста, таких как FGF, IGF, PDGF, и др. (Donnez J. et al., 1998).

Воспалительные цитокины, такие как интерлейкин-1 и интерлейкин-2, индуцируют экспрессию СЭФР, в связи с чем данный фактор роста

рассматриваться как медиатор ангиогенеза в воспалительных процессах (Соколов Д.И. и соавт., 2005). СЭФР присутствует в эндометрии, играя важную роль в регуляции менструального цикла. Так, его количество повышено в лютеиновую фазу цикла, особенно у женщин с различными заболеваниями органов малого таза, в том числе и воспалительными (Smith S.K., 2001; Lin J., 2005). У таких пациенток при ретроградном забросе крови во время менструации ангиогенез изначально усилен за счет секреции СЭФР, что может способствовать имплантации фрагментов эндометриоидной ткани в брюшной полости.

Достоверных отличий в содержании СЭФР и его рецептора в сыворотке крови при эндометриозе не установлено (таблица 28, 29).

Таблица 28 – Содержание клеточных регуляторов в сыворотке крови пациенток с I-II стадиями НГЭ и пациенток без эндометриоза

Показатель	Контроль	НГЭ I-II ст.	p
sFASL (нг/мл)	0,20 [0,15-0,24]	0,11 [0,08-0,20]	0,015
СЭФР (пкг/мл)	330,28 [187,53-399,06]	280,99 [118,52-436,19]	0,883
СЭФР-R1 (пкг/мл)	27,34 [21,12-49,93]	33,78 [21,15-90,76]	0,499

Таблица 29 – Содержание клеточных регуляторов в сыворотке крови пациенток с III-IV стадиями НГЭ и пациенток без эндометриоза

Показатель	Контроль	НГЭ III-IV ст.	p
sFASL (нг/мл)	0,20 [0,15-0,24]	0,18 [0,016-0,23]	1,836
СЭФР (пкг/мл)	330,28 [187,53-399,06]	340,45 [219,73-390,61]	0,883
СЭФР-R1 (пкг/мл)	27,34 [21,12-49,93]	27,34 [17,54-37,85]	0,756

В перитонеальной жидкости у пациенток с I-II стадиями НГЭ также не

обнаружено статистически значимых изменений концентрации СЭФР (таблица 30). Однако при III-IV стадиях заболевания локальный уровень СЭФР достоверно увеличен на 58,9% ($p=0,024$) по сравнению с показателем в группе контроля (таблица 31, рисунок 15). Наши данные согласуются с результатами других авторов, которые также показали увеличение уровня СЭФР при эндометриозе (Puro-Nogueira A. et al., 2007; Cho S. et al., 2012; Kianpour M. et al., 2013). Кроме того, Gagne D. и соавт. (2003) установили достоверное локальное увеличение этого фактора при практически неизменном общем циркулирующем его уровне в организме больных с эндометриозом.

При I-II и III-IV стадиях НГЭ в перитонеальной жидкости не выявлено достоверных отличий в уровне СЭФР-R1 (таблица 30, 31).

Таблица 30 – Содержание клеточных регуляторов в перитонеальной жидкости пациенток с I-II стадиями НГЭ и пациенток без эндометриоза

Показатель	Контроль	НГЭ I-II ст.	p
sFASL (нг/мл)	0,12 [0,10-0,20]	0,11 [0,095-0,13]	0,541
СЭФР (пкг/мл)	227,64 [164,96-337,33]	258,64 [163,03-802,18]	0,541
СЭФР-R1 (пкг/мл)	22,30 [16,45-32,15]	22,31 [2,45-78,61]	0,987

Таблица 31 – Содержание клеточных регуляторов в перитонеальной жидкости пациенток с III-IV стадиями НГЭ и пациенток без эндометриоза

Показатель	Контроль	НГЭ III-IV ст.	p
sFASL (нг/мл)	0,12 [0,10-0,20]	0,07 [0,05-0,09]	0,002
СЭФР (пкг/мл)	27,64 [164,96-337,33]	361,79 [296,39-941,42]	0,005
СЭФР-R1 (пкг/мл)	22,30 [16,45-32,15]	27,35 [17,84-106,19]	0,384

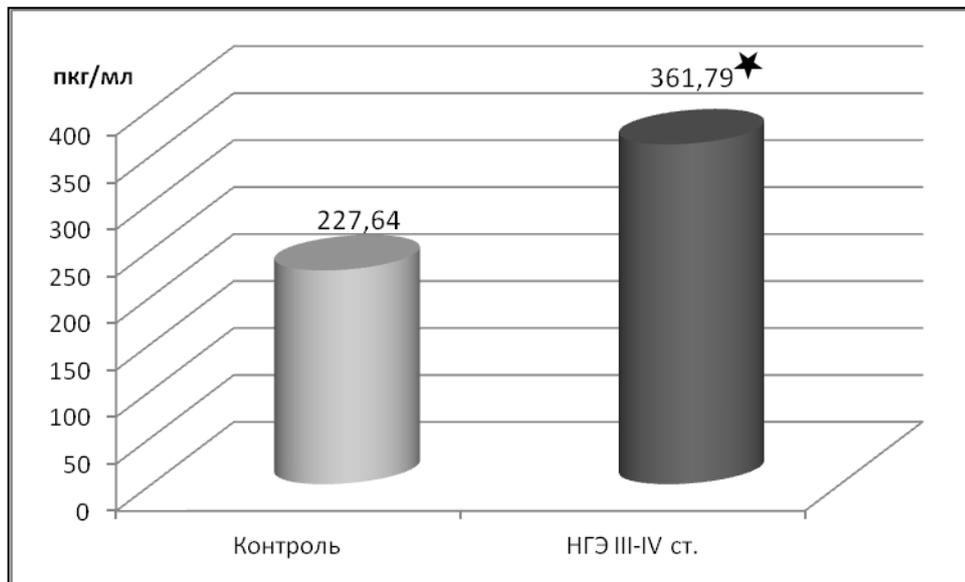


Рисунок 15 – Содержание СЭФР в перитонеальной жидкости пациенток с III-IV стадиями НГЭ.

Процессы апоптоза участвуют в циклических изменениях эндометрия и значительно снижены в эктопическом и эутопическом эндометрии больных НГЭ по сравнению с эндометрием здоровых женщин (Кондратьева И.Г. и др., 2009, Narada T., et al., 2004). Среди основных механизмов нарушения процессов апоптоза при эндометриозе важная роль принадлежит FAS-опосредованному апоптозу CD95-позитивных клеток (Walczak H. et al., 2000). При этом показано, что эндометриальные клетки больных эндометриозом резистентны к цитокин-индуцированному апоптозу.

Концентрация sFASL в сыворотке крови при I-II стадиях НГЭ была на 44% ниже ($p=0,042$) по сравнению с показателем в контрольной группе (таблица 28, рисунок 16). Однако при более выраженных стадиях сывороточный уровень этого белка не изменялся ($p>0,05$).

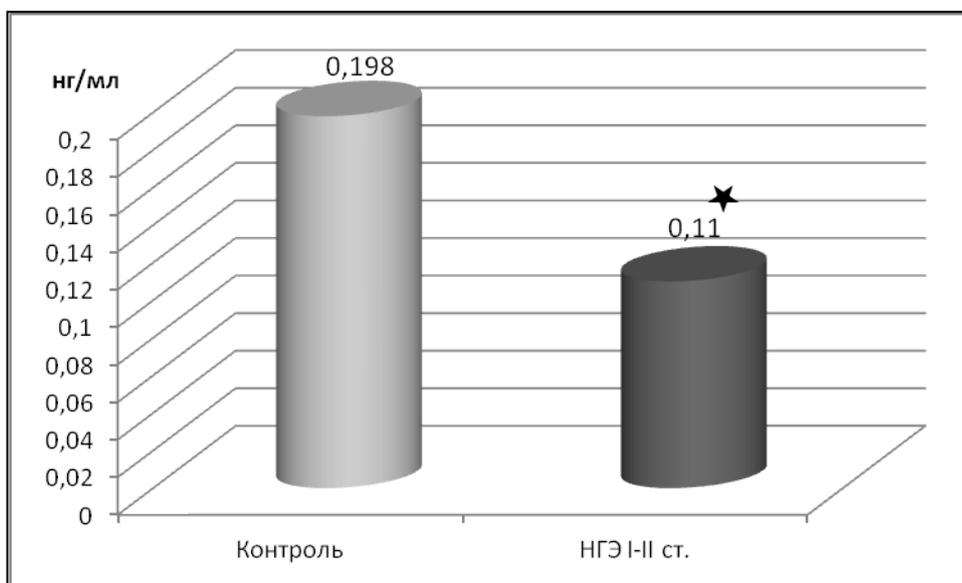


Рисунок 16 – Содержание sFASL в сыворотке крови пациенток с I-II стадиями HGЭ.

Содержание sFASL в перитонеальной жидкости оказался на 42% ниже ($p=0,004$) в группе пациенток с III-IV стадиями HGЭ относительно данных в контрольной группе (таблица 31, рисунок 17). Статистически значимых изменений локального уровня sFASL при ранних стадиях HGЭ не установлен (таблица 30).

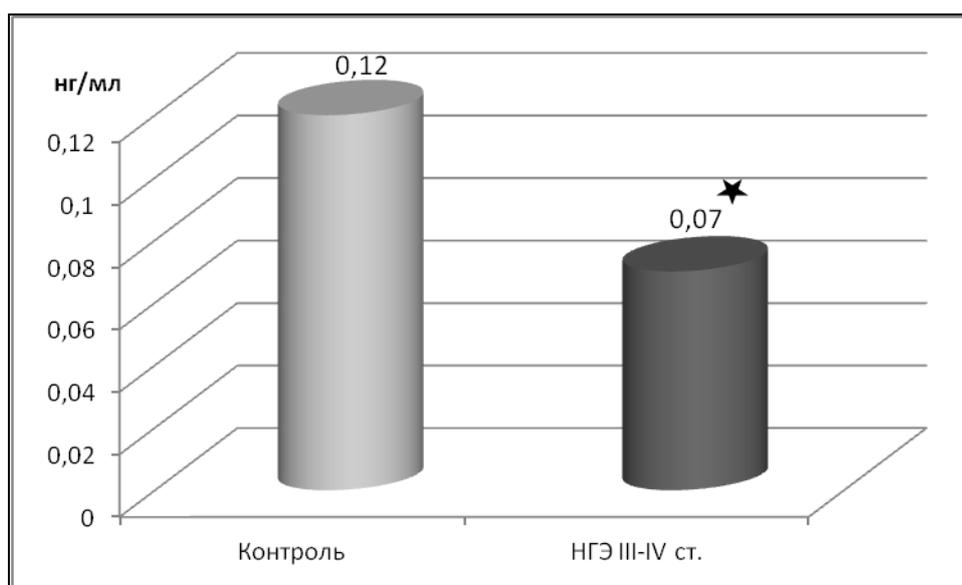


Рисунок 17 – Содержание sFASL в перитонеальной жидкости пациенток с III-IV стадиями HGЭ.

В работах последних лет было показано, что в очагах эндометриоза имеют место низкий уровень апоптоза и высокая пролиферативная активность эндометриальных клеток (Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2002, Chung H.W., et al., 2001, Nasu K., et al., 2005). Снижение уровня sFASL в перитонеальной жидкости может приводить к выживанию активных, биологически нецелесообразных клеток эндометрия, которые в норме должны были бы самоликвидироваться в процессе менструального цикла (Пашков В.М. и соавт., 2007). Снижение чувствительности эндометриоидных клеток к апоптозу приводит к их диссеминации и имплантации в эктопических очагах (Beliard M.A. et al., 2004).

3.5. Корреляционный анализ и «Деревья решений»

С целью определения значимости изучаемых нами показателей был проведен корреляционный анализ (рисунок 18, приложение №1). При I-II стадии эндометриоза в сыворотке крови в отличие от контроля нами обнаружено наличие значимой положительной связи между показателями компонентов комплемента C3 и C4-b ($r=0,9$, $p=0,0001$). Это же сочетание показателей, но с менее значимой положительной связью $r=0,5$ ($p=0,04$), обнаружено в сыворотке крови при III-IV стадии заболевания. Также при этой стадии НГЭ выявлена положительная связь $r=0,5$ ($p=0,04$) между показателями СЭФР-R1 и sFASL.

Интересно, что и в перитонеальной жидкости при I-II стадии заболевания имеет место значимая положительная связь между уровнями C3 и C4-b компонентов комплемента $r=0,7$ ($p=0,009$). При этом обнаружена отрицательная невыраженная связь между величиной sFASL и содержанием компонента комплемента C4-b $r=-0,5$ ($p=0,05$). При III-IV стадии НГЭ в перитонеальной жидкости нами обнаружены положительные связи между уровнями Апо-AIV и СЭФР-R1 $r=0,6$ ($p=0,03$), СЭФР и sFASL $r=0,6$ ($p=0,02$).

Таким образом, результаты корреляционного анализа подтверждают взаимозависимость и взаимосвязь изученных клеточных регуляторных факторов

и белков отличия при реализации их метаболических эффектов как в сыворотке крови, так и перитонеальной жидкости при эндометриозе.

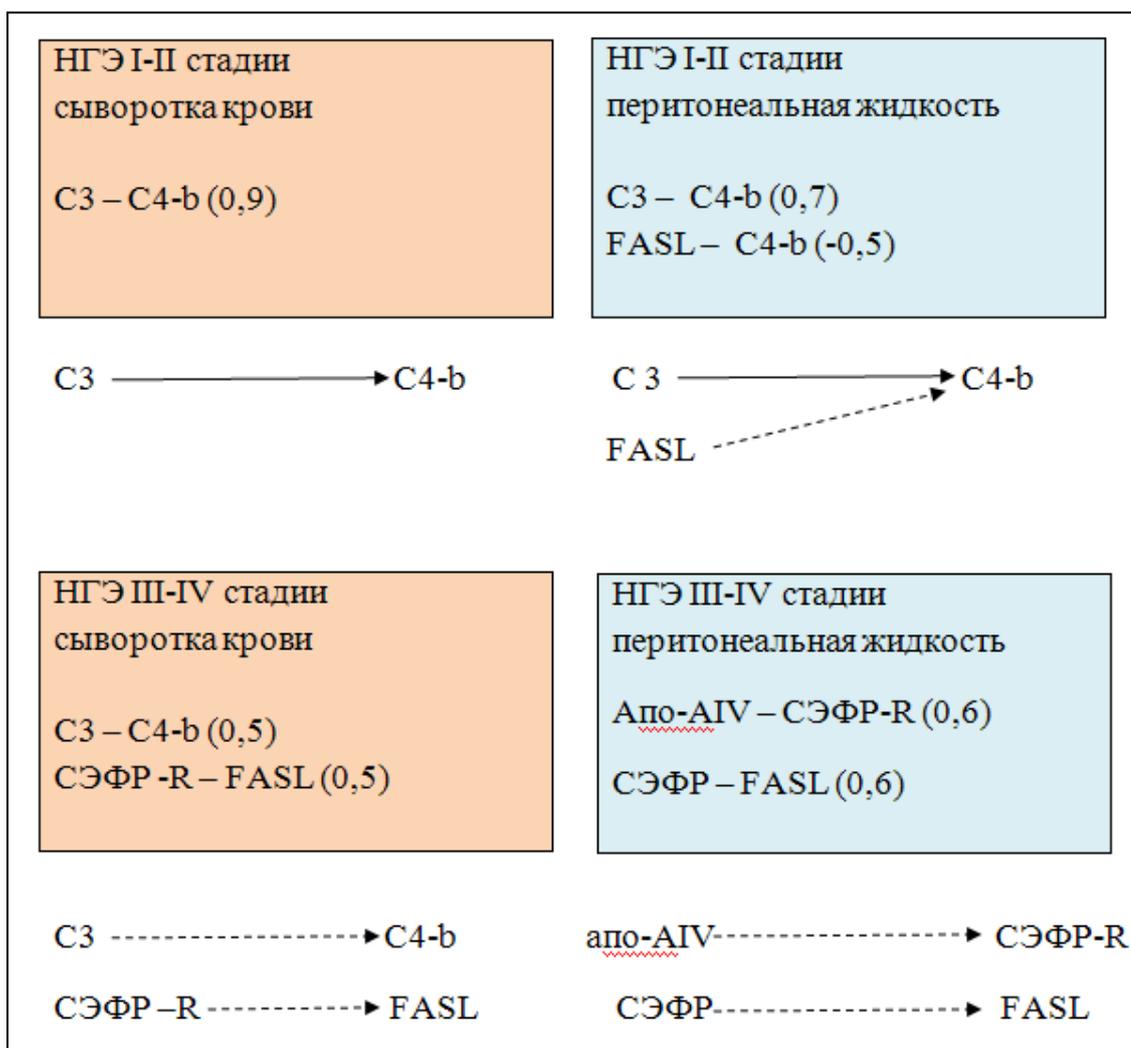


Рисунок 18 – Коэффициенты корреляции между изученными показателями в сыворотке крови и перитонеальной жидкости у пациенток с НГЭ.

3D графики прогностической поверхности sFASL от Апо-AIV и ГСПГ

С целью определения значимости прогностической ценности положительного результата изученных нами показателей для оптимизации диагностики НГЭ нами были сформированы триады. С учетом изученных нами функций и содержания белков отличия и клеточных регуляторов и их взаимосвязей, в первую триаду включены sFASL, Апо-AIV и ГСПГ.

В сыворотке крови женщин контрольной группы максимальное значение sFASL достигается при стремящихся к минимальному уровнях ГСПГ и Апо-АIV (таблица 32, рисунок 19).

Таблица 32 – Результат анализа взаимосвязей между sFASL, Апо-АIV и ГСПГ

Сыворотка крови	sFASL	ГСПГ	Апо-АIV
Пациентки группы контроля	↑	↓	↓
Пациентки с I-II стадиями НГЭ	↑	↑	↓
	↑	↓	↑
Пациентки с III-IV стадиями НГЭ	↑	↓	↓

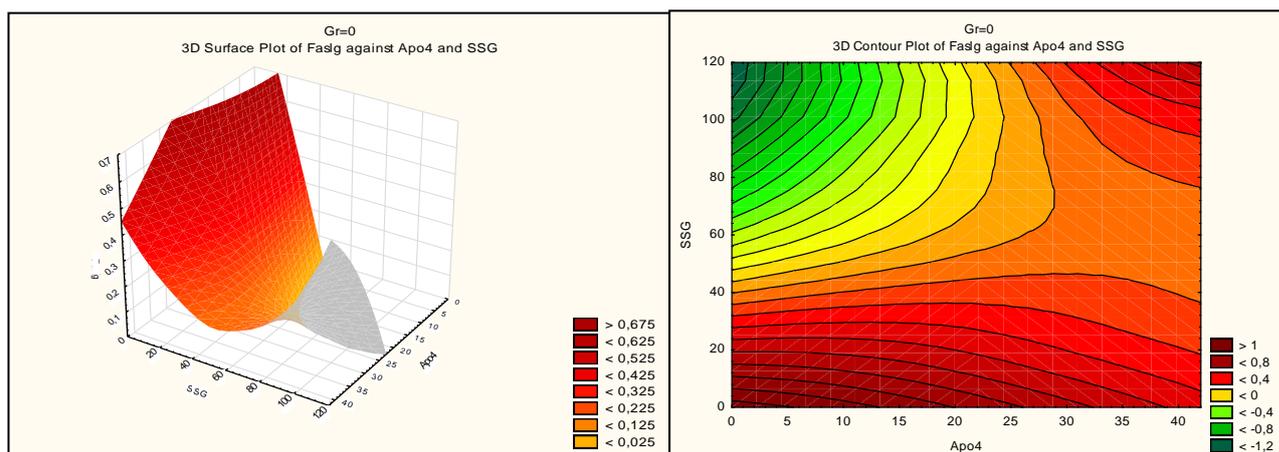


Рисунок 19 – Корреляционные связи в сыворотке крови между белками отличия и клеточными регуляторами в группе контроля.

При НГЭ I-II стадии на прогностической поверхности максимальное значение sFASL принимает в двух вариантах: при стремящемся к максимальному уровню ГСПГ и к минимальному уровню Апо-АIV, а также при стремящемся к минимальному уровню ГСПГ и к максимальному уровню Апо-АIV (таблица 32, рисунок 20).

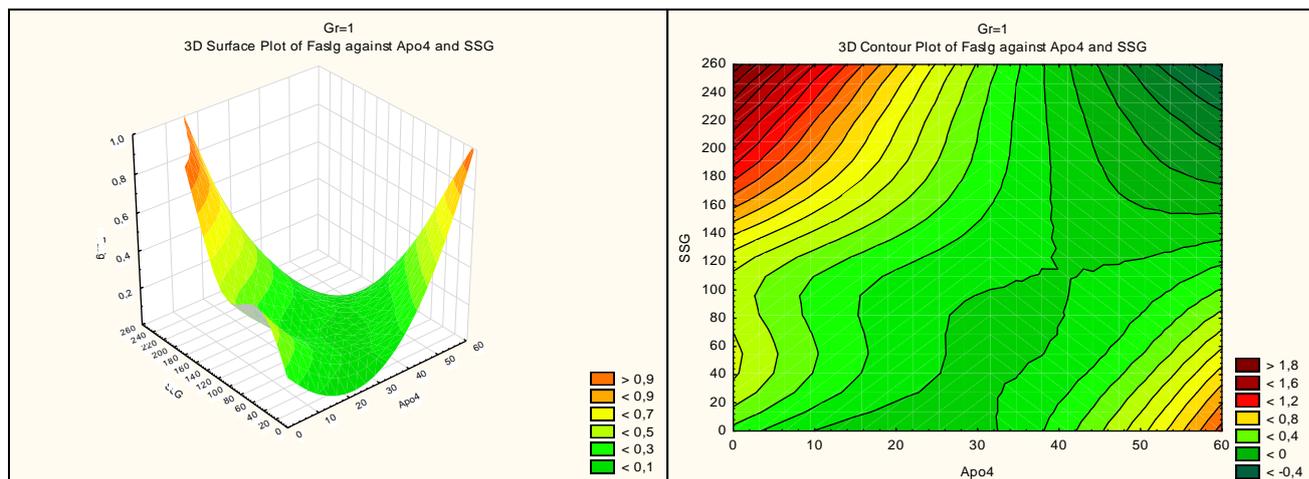


Рисунок 20 – Корреляционные связи в сыворотке крови между белками отличия и клеточными регуляторами при I-II стадиях НГЭ.

При НГЭ III-IV стадии максимальное значение sFASL имеет при стремящихся к минимальным показателям ГСПГ и Апо-AIV (таблица 32, рисунок 21).

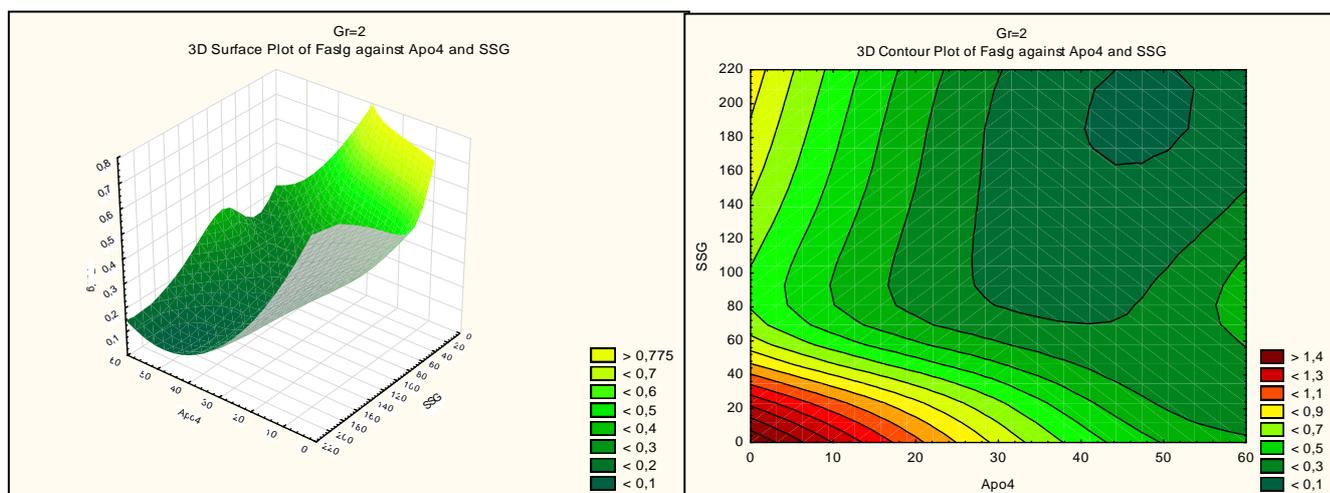
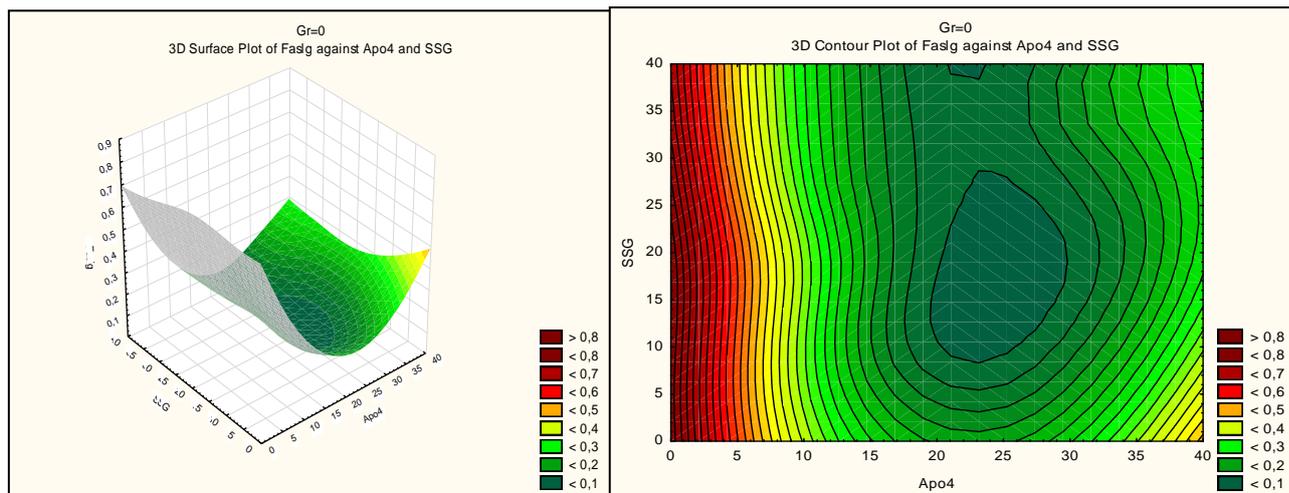


Рисунок 21 – Корреляционные связи в сыворотке крови между белками отличия и клеточными регуляторами при III-IV стадиях НГЭ.

В перитонеальной жидкости в группе контроля максимальное значение sFASL имеет при любом значении ГСПГ и стремящемся к минимальному уровню Апо-AIV (таблица 33, рисунок 22).

Таблица 33 - Результат анализа взаимосвязей между sFASL, Апо-АIV и ГСПГ

Перитонеальная жидкость	sFASL	ГСПГ	Апо-АIV
Пациентки группы контроля	↑	любое	↓
Пациентки с I-II стадиями НГЭ	↑	↑	↓
	↑	↓	↑
Пациентки с III-IV стадиями НГЭ	↑	↑	↓

**Рисунок 22 – Корреляционные связи в перитонеальной жидкости между белками отличия и клеточными регуляторами в группе контроля.**

При НГЭ I-II стадии максимальное значение sFASL, как и в сыворотке крови, принимает при стремящемся к максимальному уровню ГСПГ и к минимальному уровню Апо-АIV, а также при стремящемся минимальному уровню ГСПГ и максимальному уровню Апо-АIV (таблица 33, рисунок 23). Обращает на себя внимание тот факт, что только при I-II стадиях НГЭ имеют место однонаправленные совпадения на прогностической поверхности исследуемых белков и клеточных регуляторов.

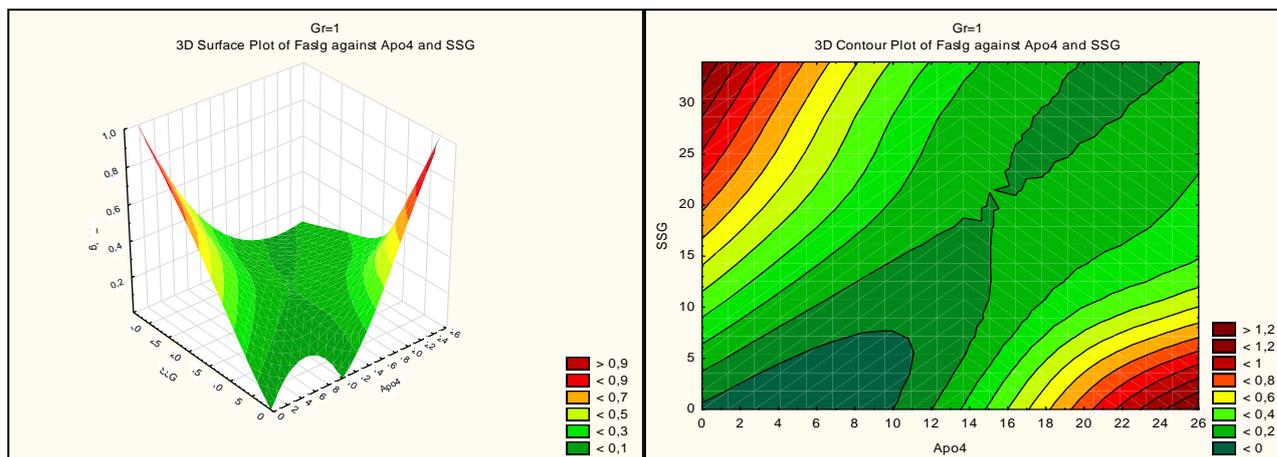


Рисунок 23 – Корреляционные связи в перитонеальной жидкости между белками отличия и клеточными регуляторами при I-II стадиях НГЭ.

При НГЭ III-IV стадии максимальное значение sFASL имеет при стремящихся к максимальному показателю ГСПГ и минимальному Апо-АIV (таблица 33, рисунок 24).

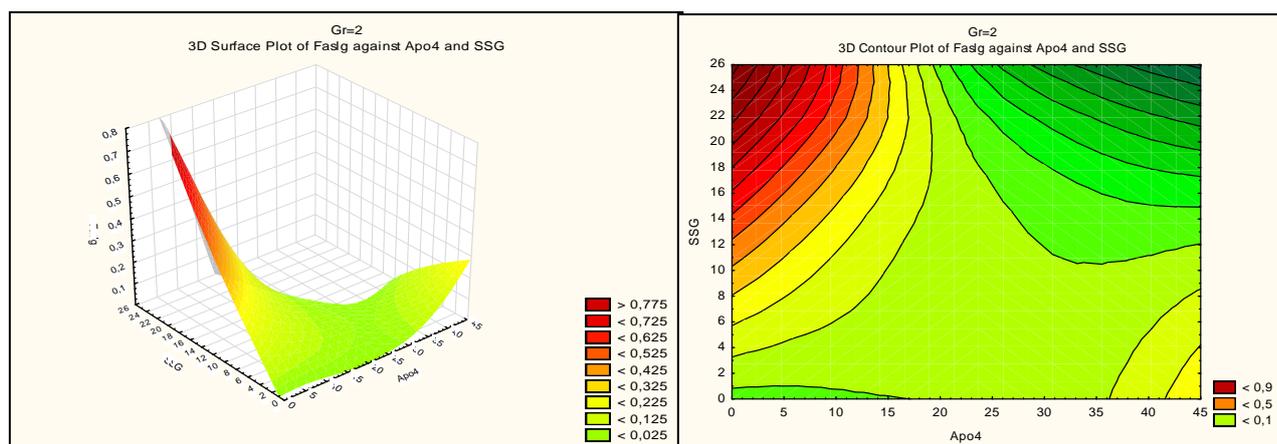


Рисунок 24 – Корреляционные связи в перитонеальной жидкости между белками отличия и клеточными регуляторами при III-IV стадиях НГЭ.

3D графики прогностической поверхности Апо-АIV от С3 и С4-в

В сыворотке крови в группе контроля максимальное значение Апо-АIV достигается при стремящемся показателе С4-в к середине референтного интервала и стремящемся к минимальному или максимальному уровню С3 (таблица 34, рисунок 25).

Таблица 34 – Результат анализа взаимосвязей между Апо-АIV от С3 и С4-в

Сыворотка крови	Апо-АIV	С3	С4-в
Пациентки группы контроля	↑	↓ или ↑	середина
Пациентки с I-II стадиями НГЭ	↑	середина	↑
Пациентки с III-IV стадиями НГЭ	↑	↓	↓

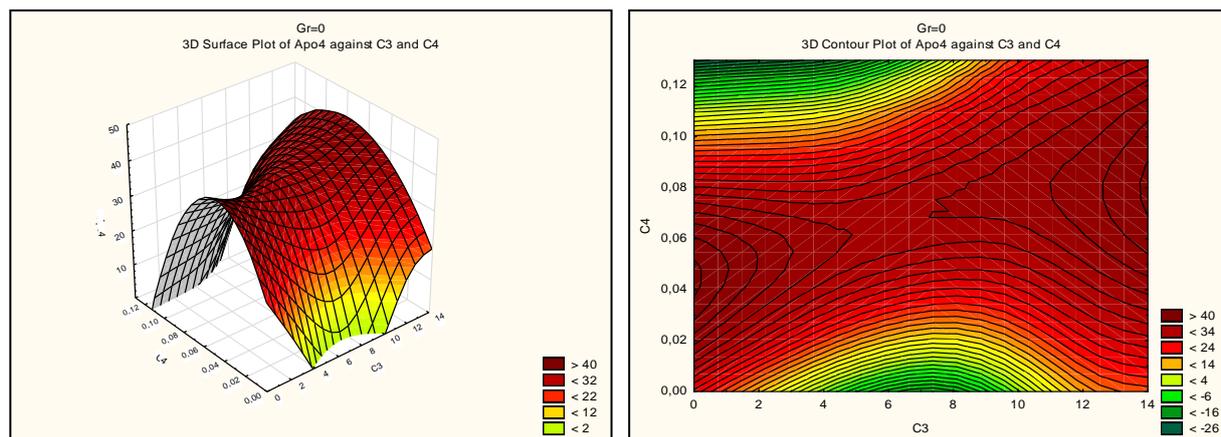


Рисунок 25 - Корреляционные связи в сыворотке крови между белками отличия и клеточными регуляторами в группе контроля.

При НГЭ I-II стадии на прогностической поверхности максимальное значение Апо-АIV принимает при стремящемся к максимальному уровню С4-в и к середине референтного интервала С3 в данной подгруппе (таблица 34, рисунок 26).

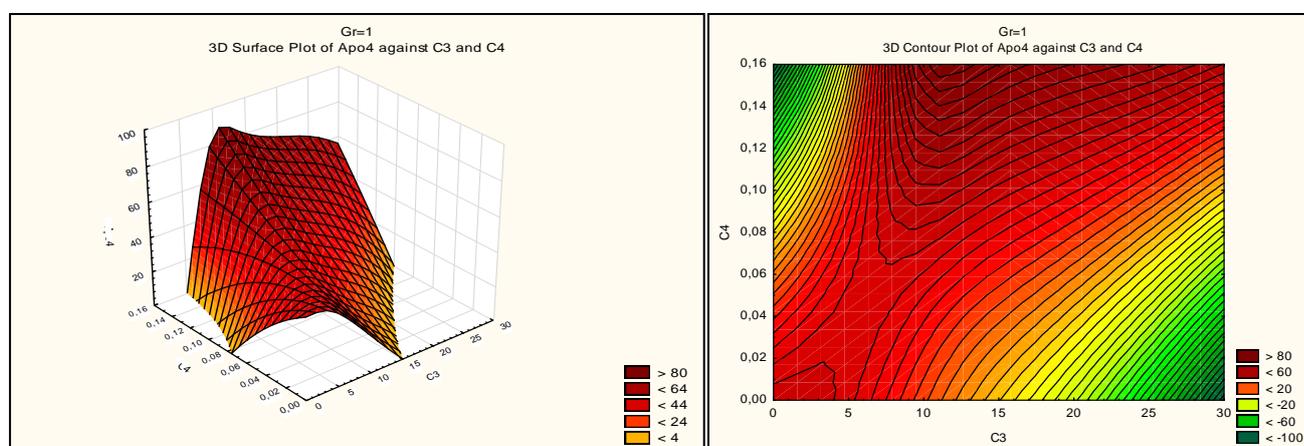


Рисунок 26 – Корреляционные связи в сыворотке крови между белками отличия и клеточными регуляторами при I-II стадиях НГЭ.

При НГЭ III-IV стадии максимальное значение Апо-АIV имеет при стремящихся к минимуму показателям С3 и С4-в (таблица 34, рисунок 27).

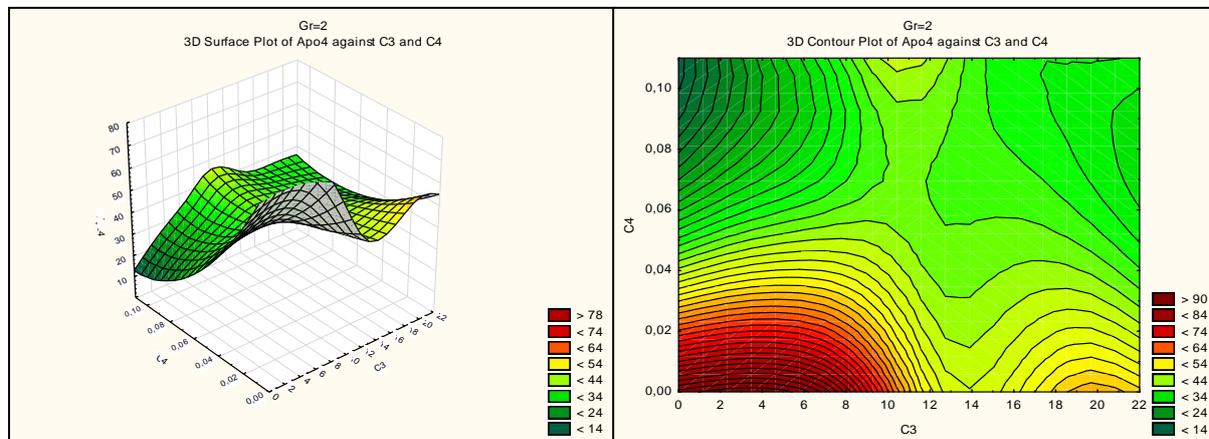


Рисунок 27 – Корреляционные связи в сыворотке крови между белками отличия и клеточными регуляторами при III-IV стадиях НГЭ.

В перитонеальной жидкости в группе контроля максимальное значение Апо-АIV имеет в двух вариантах: при стремящихся к максимальному уровню С3 и С4-в, а также при стремящихся к минимальному уровню С3 и С4-в (таблица 35, рисунок 28).

Таблица 35 – Результат анализа взаимосвязей между Апо-АIV от С3 и С4-в

Перитонеальная жидкость	Апо-АIV	С3	С4-в
Пациентки группы контроля	↑	↑	↑
	↑	↓	↓
Пациентки с I-II стадиями НГЭ	↑	середина	любое
Пациентки с III-IV стадиями НГЭ	↑	↑	↑

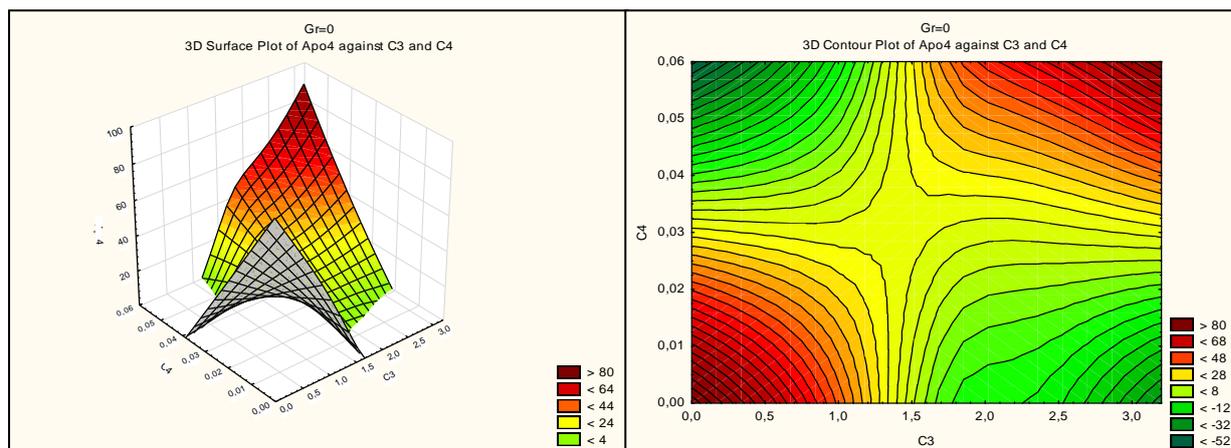


Рисунок 28 – Корреляционные связи в перитонеальной жидкости между белками отличия и клеточными регуляторами в группе контроля.

При НГЭ I-II стадии максимальное значение Апо-АIV принимает при любом значении C4-b, а так же стремящемуся к середине референтного интервала C3 (таблица 35, рисунок 29).

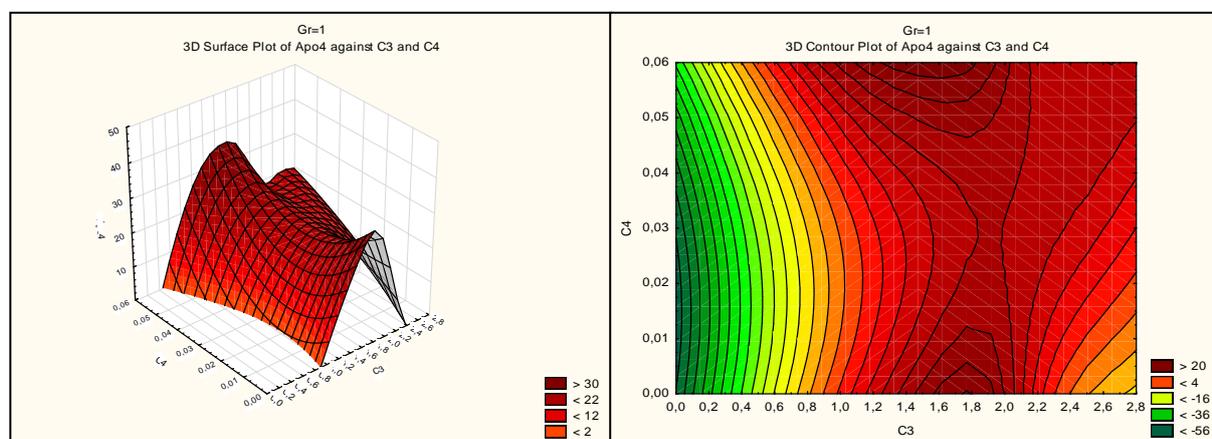


Рисунок 29 – Корреляционные связи в перитонеальной жидкости между белками отличия и клеточными регуляторами при I-II стадиях НГЭ.

При НГЭ III-IV стадии максимальное значение Апо-АIV имеет при стремящихся к максимальному показателю C3 и C4-b (таблица 35, рисунок 30).

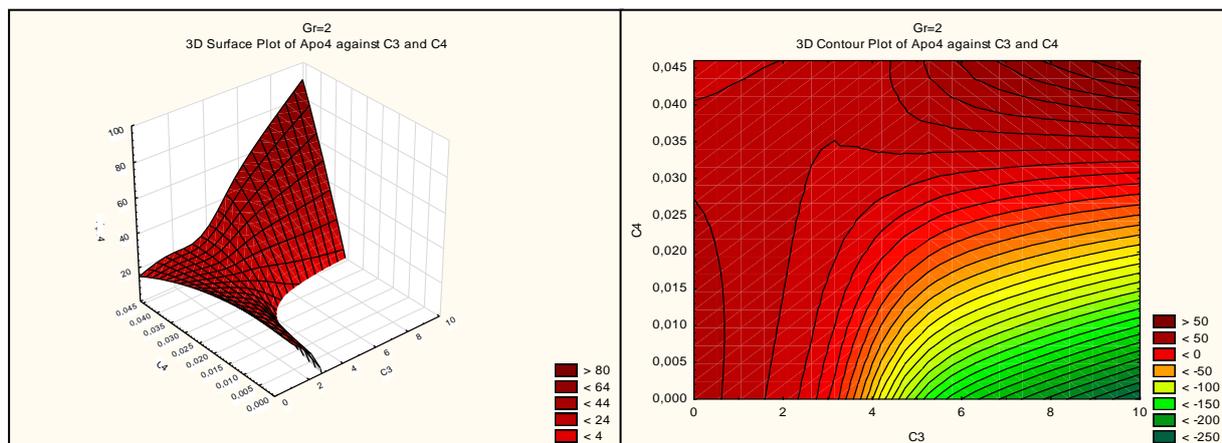


Рисунок 30 – Корреляционные связи в перитонеальной жидкости между белками отличия и клеточными регуляторами при III-IV стадиях НГЭ.

Для определения чувствительности, специфичности и возможности использования для диагностики НГЭ изученных нами маркеров использован метод «Деревья решений» (приложение № 2-9). Этот метод, который является одним из самых мощных средств решения задачи включения какого-либо объекта (строки набора данных) к одному из заранее известных классов. Цель деревьев регрессии - спрогнозировать значение количественной целевой переменной в зависимости от соответствующих значений предикторов.

«Деревья решений» – это метод, позволяющий предсказывать принадлежность наблюдений или объектов к тому или иному классу категориальной зависимой переменной в соответствии со значениями одной или нескольких предикторов. Зависимость значения выходной переменной от значений атрибутов, поданных на вход, представлена в виде иерархической структуры – «дерева». «Стволом дерева» является проблема или ситуация, требующая решения. "Вершиной дерева" являются цели, которыми руководствуется человек, принимающий решение.

Применяя метод «Деревья решений» к исходящему потоку пациенток по сыворотке крови мы получаем 3 группы правил, разделяющих исходный поток на группу контроля, I-II стадии НГЭ, III-IV стадии НГЭ (приложение № 2).

I правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,128 \text{ нг/мл} \\ \text{C3} \leq 9,34 \text{ мкг/мл} \\ \text{Апо-AIV} \leq 44,17 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

II правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} 0,128 \text{ нг/мл} < \text{sFASL} \leq 0,147 \text{ нг/мл} \\ \text{C3} > 9,34 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

III правило – НГЭ I-II стадии

$$\text{sFASL} \leq 0,128 \text{ нг/мл}$$

IV правило – НГЭ I-II стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,128 \text{ нг/мл} \\ \text{C3} \leq 9,34 \text{ мкг/мл} \\ \text{Апо-AIV} > 44,17 \text{ мкг/мл} \\ \text{C4-b} > 0,051 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

V правило – НГЭ III-IV стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,128 \text{ нг/мл} \\ \text{C3} \leq 9,34 \text{ мкг/мл} \\ \text{Апо-AIV} > 44,17 \text{ мкг/мл} \\ \text{C4-b} \leq 0,051 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

VI правило – НГЭ III-IV стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} < 0,147 \text{ нг/мл} \\ \text{C3} > 9,34 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

В случае анализа полученных данных у женщин группы контроля выявлены чувствительность 92%, специфичность 73% и отношение шансов 32,2. Определены чувствительность 91%, специфичность 86% и отношением шансов 71,5 пациенток с I-II стадией заболевания, а также чувствительность 92%, специфичность 87,5% и отношение шансов 84 у пациенток с III-IV стадией НГЭ.

Методом «Дерева решений» мы определили 4 правила для выявления пациенток без патологии и с НГЭ I-II стадий в сыворотке крови (приложение №3).

I правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,128 \text{ нг/мл} \\ \text{Апо-АIV} \leq 40,365 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЭФР-R1} \leq 17,4 \text{ пкг/мл} \\ \text{СЭФР} > 323,165 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

II правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,128 \text{ нг/мл} \\ \text{Апо-АIV} \leq 40,365 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЭФР-R1} > 17,4 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

III правило – НГЭ I-II стадии

$$\text{sFASL} \leq 0,128 \text{ нг/мл}$$

IV правило – НГЭ I-II стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,128 \text{ нг/мл} \\ \text{Апо-АIV} \leq 40,365 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЭФР-R1} \leq 17,4 \text{ пкг/мл} \\ \text{СЭФР} \leq 323,165 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

Применение этих наборов классификационных правил позволяет выделить из входного потока данных пациенток без эндометриоза и с I-II стадиями НГЭ с чувствительностью 92%, специфичностью 93%, при отношении шансов – 182.

По данному методу определены для сыворотки крови правила для выявления пациенток с НГЭ III-IV стадиями в сыворотке крови (приложение №4).

I правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{СЗ} \leq 8,86 \text{ мкг/мл} \\ \text{Апо-АIV} \leq 44,1725 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

II правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{СЗ} > 8,86 \text{ мкг/мл} \\ \text{sFASL} \leq 0,152 \text{ нг/мл} \\ \text{ГСПГ} \leq 70,57 \text{ нмоль/л} \end{array} \right.$$

III правило – НГЭ III-IV стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} C3 \leq 8,86 \\ \text{Апо-AIV} > 44,1725 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

IV правило – НГЭ III-IV стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} C3 > 8,86 \text{ мкг/мл} \\ \text{sFASL} \leq 0,152 \text{ нг/мл} \\ \text{ГСПГ} > 70,57 \text{ нмоль/л} \end{array} \right.$$

V правило – НГЭ III-IV стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} C3 > 8,86 \text{ мкг/мл} \\ \text{sFASL} > 0,152 \text{ нг/мл} \end{array} \right.$$

В данных группах чувствительность и специфичность составили по 93,3% при отношении шансов – 196.

По результатам многофакторного анализа были определены критерии величин, позволяющие диагностировать стадии НГЭ в сыворотке крови (приложение № 5).

I правило – НГЭ I-II стадии

$$\text{sFASL} \leq 0,138 \text{ нг/мл}$$

II правило – НГЭ I-II стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,138 \text{ нг/мл} \\ 9,105 \text{ мкг/мл} < C3 \leq 9,345 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

III правило – НГЭ III-IV стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,138 \text{ нг/мл} \\ C3 > 9,345 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

IV правило – НГЭ III-IV стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,138 \text{ нг/мл} \\ C3 \leq 9,105 \text{ мкг/мл} \\ \text{ГСПГ} \leq 96,005 \text{ нмоль/л} \end{array} \right.$$

Учитывая эти классификационные правила, мы выделили из входного потока данных для пациенток с I-II и III-IV стадией НГЭ те показатели, которые

соответствовали чувствительности 92,8%, специфичности 86,6%, отношению шансов – 84,5.

Применяя метод «Дерева решений» к исходящему потоку пациенток по перитонеальной жидкости, мы получаем 3 группы правил, разделяющих исходный поток на группу контроля, I-II стадии НГЭ, III-IV стадии НГЭ (приложение № 6).

I правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,075 \text{ нг/мл} \\ \text{Апо-AIV} > 24,71 \text{ мкг/мл} \end{array} \right.$$

II правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,075 \text{ нг/мл} \\ 16,625 \text{ мкг/мл} < \text{Апо-AIV} \leq 24,71 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЗ} \leq 2,425 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЭФР} \leq 250,505 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

III правило – НГЭ I-II стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,075 \text{ нг/мл} \\ \text{Апо-AIV} \leq 24,71 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЗ} \leq 2,425 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЭФР} > 250,505 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

IV правило – НГЭ III-IV стадии

$$\text{sFASL} \leq 0,075 \text{ нг/мл}$$

В случае группы контроля чувствительность изученных клеточных биорегуляторов равна 83%, специфичность 93% и отношение шансов 65. Определены чувствительность 91%, специфичность 93% и отношение шансов 130 для пациенток с I-II стадией заболевания, а также установлена чувствительность 93%, специфичность 93% и отношение шансов 182 – для III-IV стадии НГЭ.

Также мы определил правила для выявления пациенток без патологии и с НГЭ I-II стадий в перитонеальной жидкости (приложение № 7).

I правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Апо-АIV} > 16,625 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЭФР} \leq 255,08 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

II правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Апо-АIV} > 24,71 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЭФР} > 255,08 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

III правило – НГЭ I-II стадии

$$\text{Апо-АIV} \leq 16,625 \text{ мкг/мл}$$

IV правило – НГЭ I-II стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} 16,625 \text{ мкг/мл} < \text{Апо-АIV} \leq 24,71 \text{ мкг/мл} \\ \text{СЭФР} > 255,08 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

Применение этих наборов классификационных правил позволяет выделить из входного потока данных пациенток с чувствительностью 86%, специфичностью 92%, отношение шансов – 84,5.

Определили правила для выявления пациенток с НГЭ III-IV стадий в перитонеальной жидкости (приложение № 8).

I правило – группа контроля

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,09 \text{ нг/мл} \\ \text{СЭФР} \leq 1113,1 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

II правило – НГЭ III-IV стадии

$$\text{sFASL} \leq 0,09 \text{ нг/мл}$$

III правило – НГЭ III-IV стадии

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{sFASL} > 0,09 \text{ нг/мл} \\ \text{СЭФР} > 1113,1 \text{ пкг/мл} \end{array} \right.$$

В данных группах чувствительность и специфичность составила по 93,3%, отношение шансов – 196.

По результатам многофакторного анализа были определены критерии величин, позволяющие диагностировать стадии НГЭ в перитонеальной жидкости (приложение № 9).

I правило – НГЭ I-II стадии

$$C3 \leq 2,125 \text{ мкг/мл}$$

II правило – НГЭ III-IV стадии

$$C3 > 2,125 \text{ мкг/мл}$$

Учитывая эти классификационные правила, мы выделили, из входного потока данных пациенток с I-II и III-IV стадией НГЭ с чувствительностью 82%, специфичностью 91%, отношение шансов – 51,3.

Таким образом, диагностические возможности этих показателей могут быть оценены как в перитонеальной жидкости, так и в сыворотке крови.. Задача нашего исследования и состояла в оптимизации неинвазивной диагностики НГЭ, а также в поиске маркеров для определения стадий заболевания.

3.6. Логистическая регрессия и ROC-анализ

Для определения диагностической значимости изученных показателей в качестве маркеров НГЭ использовался метод логистической регрессии, на основании которой строились и анализировались ROC-кривые (таблица 36–43).

Регрессионная модель предназначена для решения задач прогнозирования значения непрерывной зависимой переменной, при условии, что эта зависимая переменная может принимать значения на интервале от 0 до 1. При изучении линейной регрессии мы исследуем модели вида $y = a + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n$.

Качество модели можно оценить значением площади, ограниченной ROC-кривой — area under ROC-curve (AUC), которую можно вычислить по формуле трапеций:

$$AUC = \sum_i \frac{f_{i+1} + f_i}{2} (x_{i+1} - x_i).$$

Нами проведен ROC-анализ 8 моделей для определения их диагностической чувствительности и специфичности.

- **Модель 1** (Апо-АIV, ГСПГ, С3, С4-в) для сыворотки крови, позволяющая разделить женщин контрольной группы и пациенток с НГЭ (независимо от стадии). Уравнение лог-регрессии для этой модели (таблица 36):

$$y = 0,09757 \times \text{ГСПГ} - 92,12636 \times \text{С4-в} + 0,71436 \times \text{С3} + 0,35889 \times \text{Апо-АIV} - 19,71365.$$

Таблица 36 – Результаты логистической регрессии для модели 1 (сыворотка крови)

Лог-регрессия *Финальная*							
-2 Log Likelihood	R ² МакФадден	Хи-квадрат	Число степеней свободы	AIC	AICc	Значимость	Метод отбора переменных
21,766	0,593	31,701	4	33,766	36,166	0,0000	Обратное исключение
Коэффициенты лог-регрессии							
Фактор	Коэффициент	Стандартная ошибка	Коэффициент Вальда	Значимость	Отношение шансов	95% доверительный интервал отношения шансов	
						Минимум	Максимум
Константа	-19,71365						
АПО АIV	0,35889	0,1655	4,7038	0,0301	1,43174	1,03516	1,98024
С3	0,71436	0,2770	6,6491	0,0099	2,04287	1,18693	3,51607
С4	-92,12636	41,2475	4,9885	0,0255	0,0	0,0	0,00001
гспг	0,09757	0,0427	5,2319	0,0222	1,10249	1,01406	1,19863

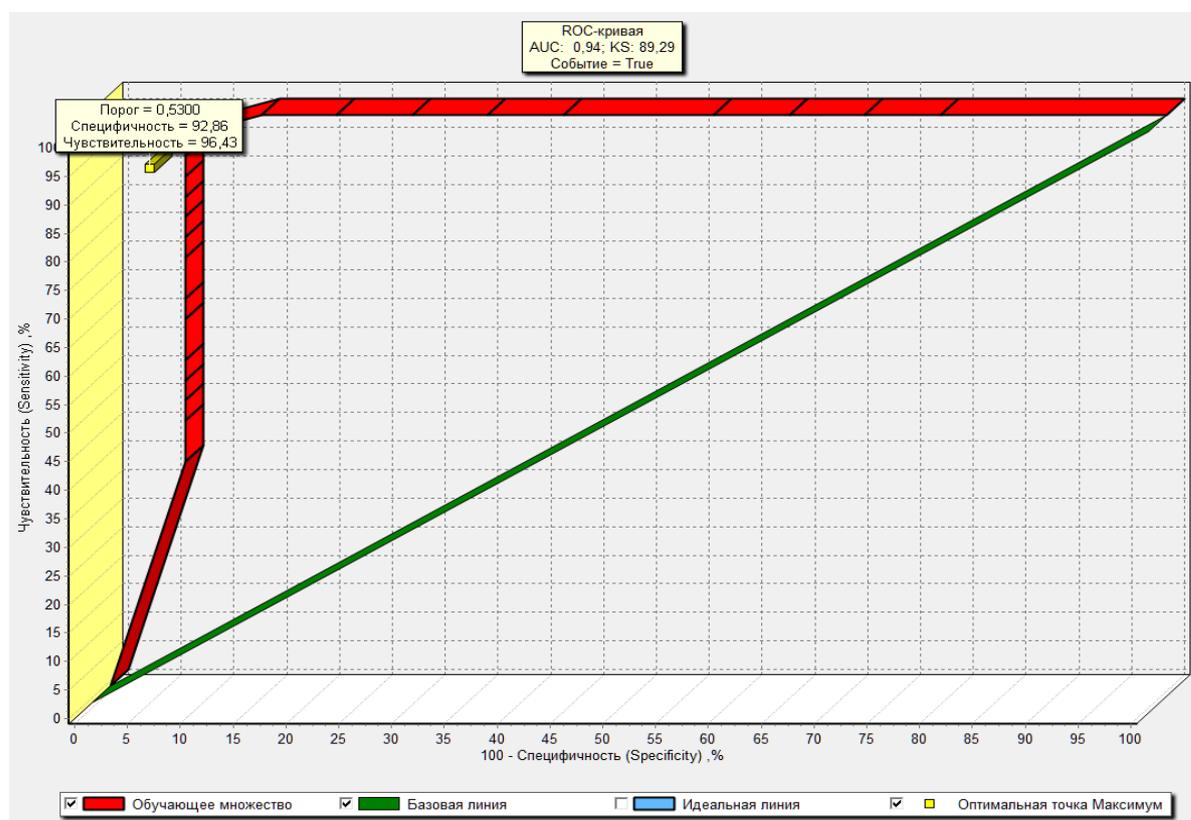


Рисунок 31 – ROC-кривая, прогнозирующая попадание пациенток в группу с НГЭ для входных параметров Апо-АIV, ГСПГ, С3, С4-в (сыворотка крови).

Для данной модели $AUC=0,94$, что свидетельствует о ее отличном качестве (рисунок 31). Оптимальным порогом классификации, обеспечивающим максимум чувствительности и специфичности теста, является точка 0,53. В ней чувствительность равна 96,43%, специфичность – 92,86%, отношение шансов – 121,3. Таким образом, делаем вывод о попадании в ту или иную группу: если показатель больше значения порога, то классифицируем как пациенток с НГЭ.

- **Модель 2** (Апо-АIV, ГСПГ, С3, С4-б) для сыворотки крови, позволяющая разделить женщин контрольной группы и пациенток с I-II стадиями НГЭ. Уравнение лог-регрессии описывается следующим образом (таблица 37):

$$y = 0,09916x\text{ГСПГ} - 80,89847x\text{С4-б} + 0,66412x\text{С3} + 0,34553x\text{Апо-АIV} - 20,59811.$$

Таблица 37 – Результаты логистической регрессии для модели 2 (сыворотка крови)

Лог-регрессия "Финальная"							
-2 Log Likelihood	R ² МакФадден	Хи-квадрат	Число степеней свободы	AIC	AICc	Значимость	Метод отбора переменных
14,932	0,586	21,112	4	26,932	31,353	0,0003	Обратное исключение
Коэффициенты лог-регрессии							
Фактор	Коэффициент	Стандартная ошибка	Коэффициент Вальда	Значимость	Отношение шансов	95% доверительный интервал отношения шансов	
						Минимум	Максимум
Константа	-20,59811						
АПО АIV	0,34553	0,1665	4,3065	0,0380	1,41273	1,01937	1,95789
С3	0,66412	0,3216	4,2653	0,0389	1,94278	1,03443	3,64879
С4	-80,89847	42,7569	3,5799	0,0585	0,0	0,0	18,2675
гспг	0,09916	0,0508	3,8172	0,0507	1,10424	0,99968	1,21974

Для данной модели $AUC=0,95$, что также соответствует отличному качеству (Рисунок 32). Оптимальным порогом классификации, обеспечивающим максимум чувствительности и специфичности теста, является точка 0,33, в которой чувствительность равна 100%, специфичность – 92,31%, отношение шансов – 196.

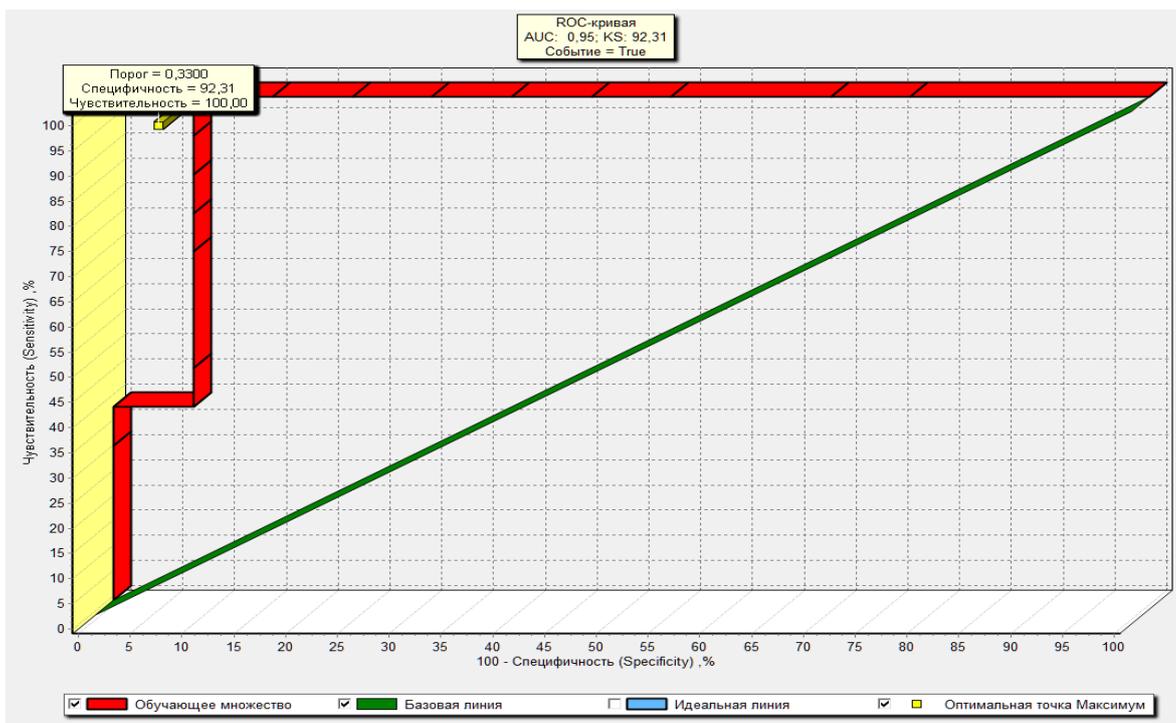


Рисунок 32 – ROC-кривая, прогнозирующая попадание пациенток в группу с I-II стадиями НГЭ для входных параметров Апо-АIV, ГСПГ, С3, С4-в (сыворотка крови).

- **Модель 3** (Апо-АIV, ГСПГ) для сыворотки крови, позволяющая разделить женщин контрольной группы и пациенток с III-IV стадиями НГЭ. Уравнение лог-регрессии (таблица 38):

$$y = 0,05084 \times \text{ГСПГ} + 0,32085 \times \text{Апо-АIV} - 15,5978.$$

Таблица 38 – Результаты логистической регрессии для модели 3 (сыворотка крови)

Лог-регрессия "Финальная"							
-2 Log Likelihood	R ² МакФадден	Chi-квадрат	Число степеней свободы	AIC	AICc	Значимость	Метод отбора переменных
25,300	0,323	12,093	2	33,300	35,118	0,0024	Прямой отбор
Коэффициенты лог-регрессии							
Фактор	Коэффициент	Стандартная ошибка	Коэффициент Вальда	Значимость	Отношение шансов	95% доверительный интервал отношения шансов	
						Минимум	Максимум
Константа	-15,5978						
АПО АIV	0,32085	0,1587	4,0851	0,0433	1,37829	1,00976	1,88133
ГСПГ	0,05084	0,0277	3,3700	0,0664	1,05216	0,99656	1,11085

Для данной модели $AUC=0,85$, что свидетельствует о ее очень хорошем качестве (Рисунок 33). Для обеспечения максимума чувствительности и специфичности теста, оптимальный порог соответствует 0,62. Чувствительность равна 69,23%, специфичность – 92,86%, отношение шансов –17,8, таким образом, делаем вывод о попадании в ту или иную группу.

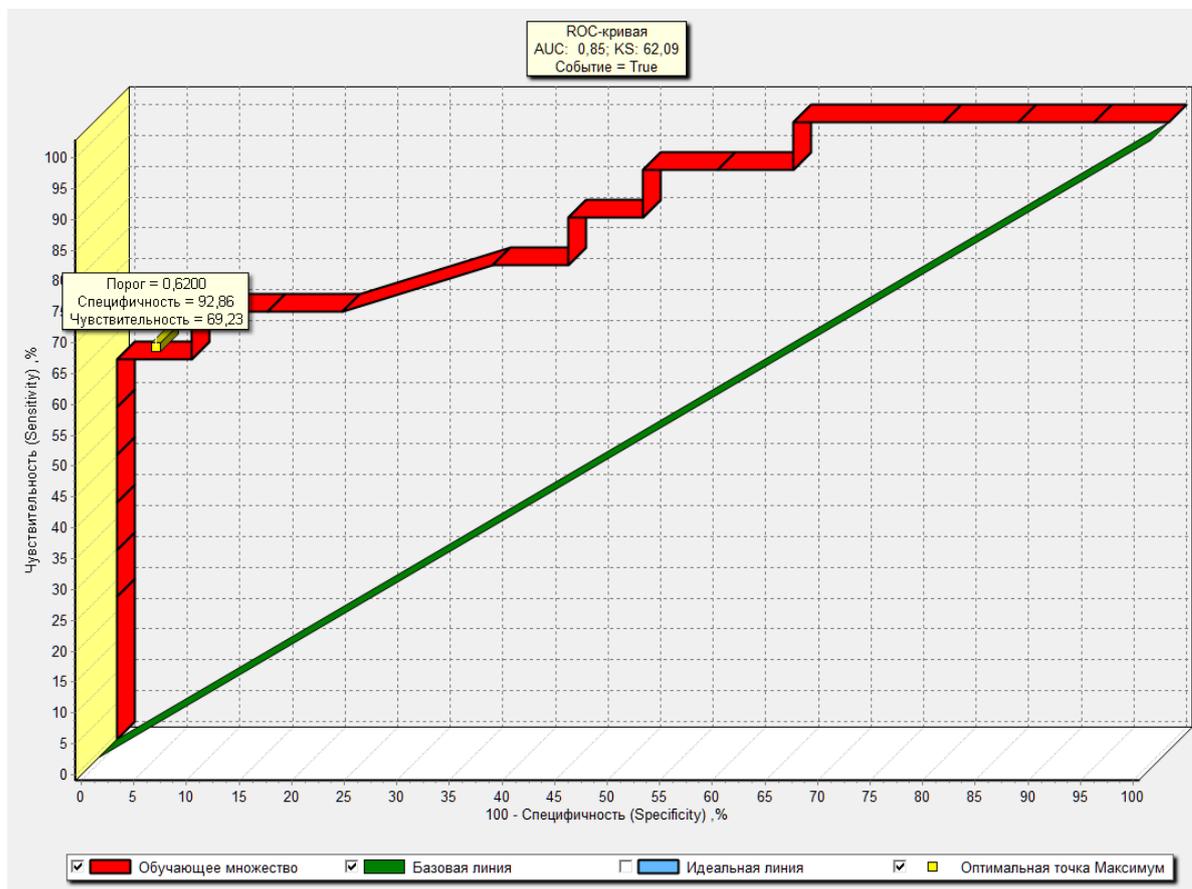


Рисунок 33 – ROC-кривая, прогнозирующая попадание пациенток в группу с НГЭ III-IV стадий для входных параметров Apo-AIV, ГСПГ (сыворотка крови).

- **Модель 4 (sFASL)** для сыворотки крови, позволяющая разделить пациенток с I-II стадиями и III-IV стадиями НГЭ. Уравнение лог-регрессии описывается следующим образом (таблица 39): $y = 19,93147 x \text{ sFASL} - 3,24973$.

Для данной модели $AUC=0,82$ (Рисунок 34). Оптимальным порогом классификации, обеспечивающим максимум чувствительности и специфичности

теста, является точка 0,33, в которой чувствительность равна 92,31%, специфичность – 69,23%, отношение шансов – 2,7.

Таблица 39 – Результаты логистической регрессии для модели 4 (сыворотка крови)

Лог-регрессия "Финальная"							
-2 Log Likelihood	R ² МакФадден	Хи-квадрат	Число степеней свободы	AIC	AICc	Значимость	Метод отбора переменных
26,784	0,257	9,260	1	32,784	33,875	0,0023	Обратное исключение
Коэффициенты лог-регрессии							
Фактор	Коэффициент	Стандартная ошибка	Коэффициент Вальда	Значимость	Отношение шансов	95% доверительный интервал отношения шансов	
						Минимум	Максимум
Константа	-3,24973						
FASL	19,93147	8,5361	5,4521	0,0195	453 029 601,98343	24,55178	8 359 304 347 031 150,0

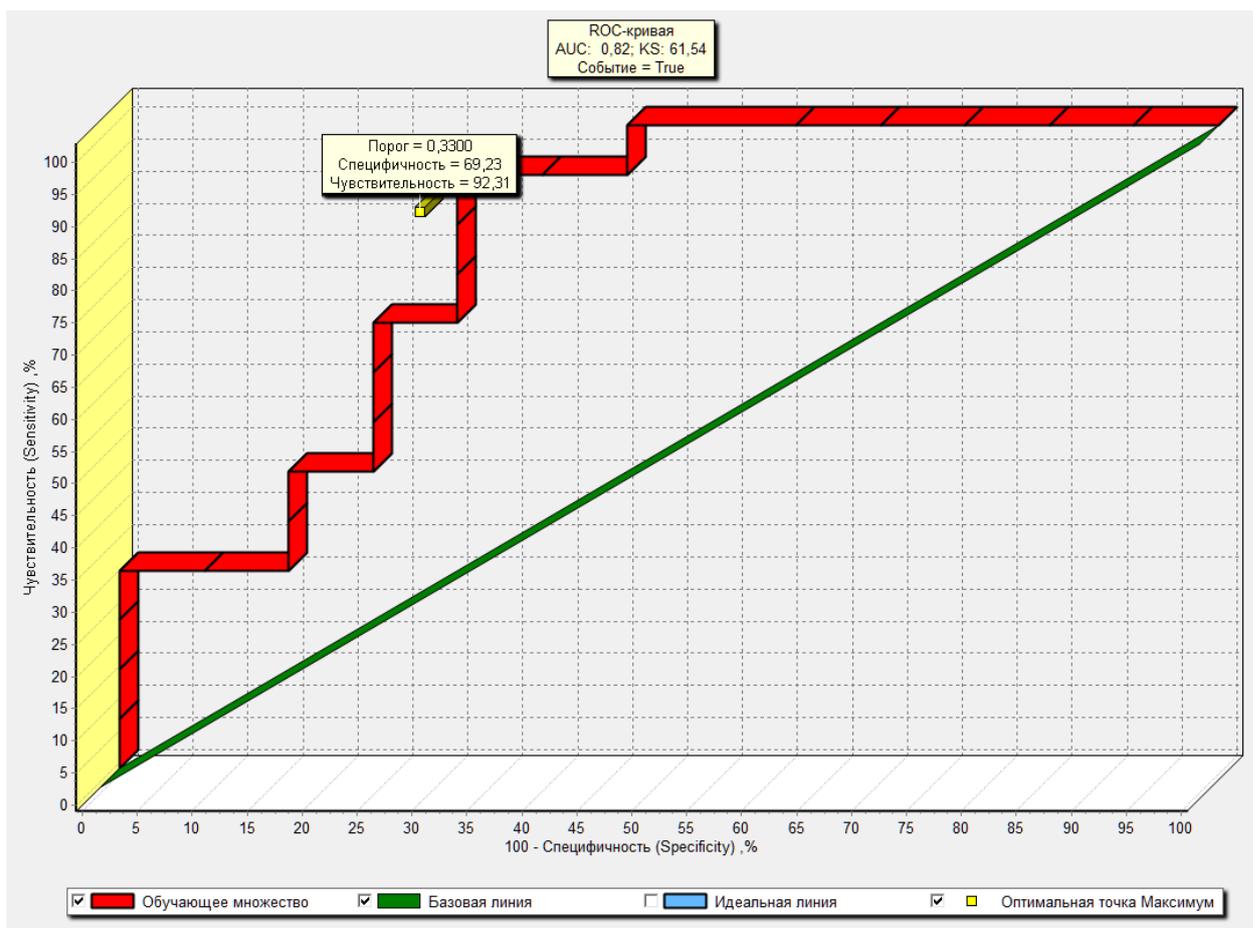


Рисунок 34 – ROC-кривая, прогнозирующая попадание пациенток в группу с I-II стадиями или в группу III-IV стадиями НГЭ для входного параметра sFASL (сыворотка крови).

- **Модель 5** (Апо-АIV, С3) для перитонеальной жидкости, позволяющая разделить женщин контрольной группы и пациенток с НГЭ (независимо от стадии). Уравнение лог-регрессии (таблица 40):

$$y = 2,18959 \times C3 - 0,32846 \times \text{Апо-АIV} + 3,19714.$$

Таблица 40 – Результаты логистической регрессии для модели 5 (перитонеальная жидкость)

Лог-регрессия "Финальная"							
-2 Log Likelihood	R ² МакФадден	Хи-квадрат	Число степеней свободы	AIC	AICc	Значимость	Метод отбора переменных
33,951	0,327	16,495	2	41,951	43,094	0,0003	Прямой отбор
Коэффициенты лог-регрессии							
Фактор	Коэффициент	Стандартная ошибка	Коэффициент Вальда	Значимость	Отношение шансов	95% доверительный интервал отношения шансов	
						Минимум	Максимум
Константа	3,19714						
АПО АIV	-0,32846	0,1181	7,7352	0,0054	0,72003	0,57124	0,90757
С3	2,18959	0,9471	5,3448	0,0208	8,93157	1,39553	57,16305

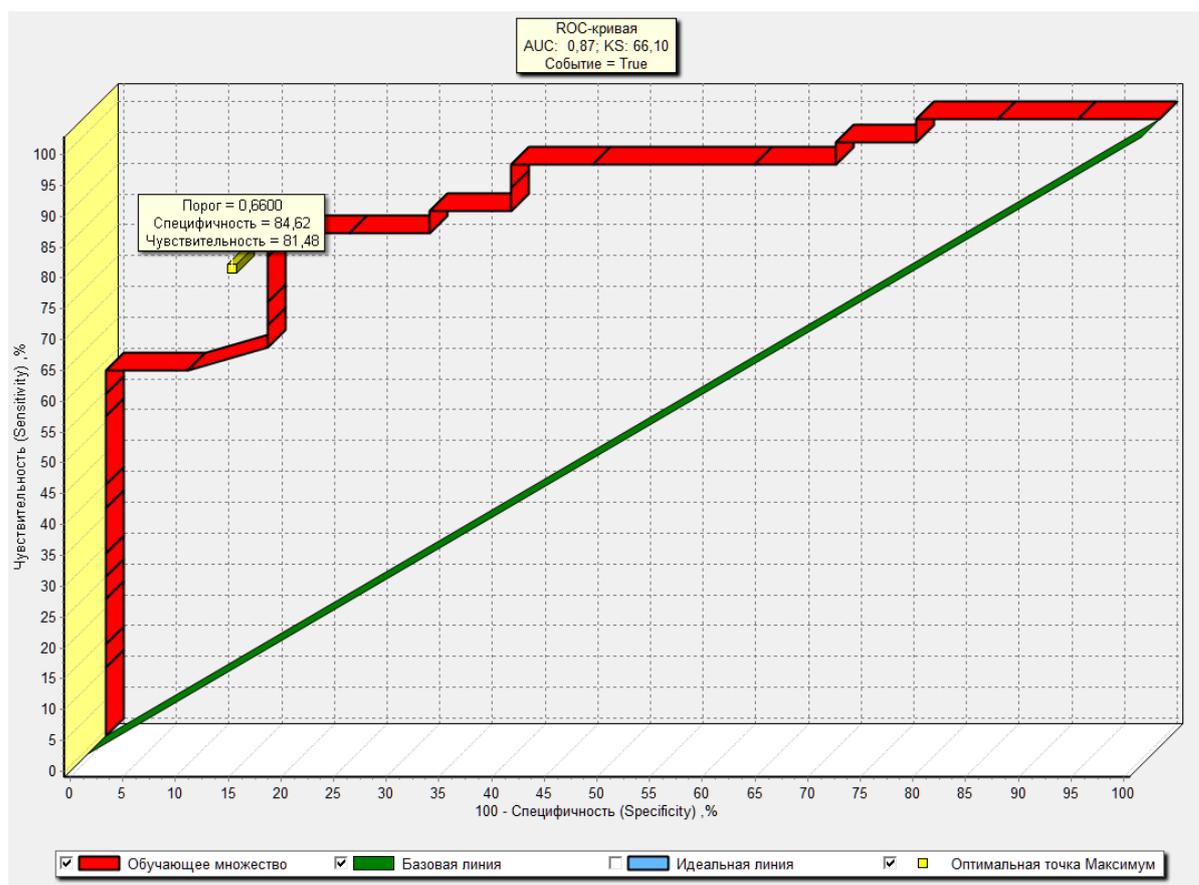


Рисунок 35 – ROC-кривая, прогнозирующая попадание пациенток в группу с НГЭ для входных параметров Апо-АIV, С3 (перитонеальная жидкость).

Для данной модели $AUC=0,87$ (Рисунок 35). Оптимальным порогом классификации, обеспечивающим максимум чувствительности и специфичности теста, является точка 0,66, в которой чувствительность равна 81,48%, специфичность – 84,62%, отношение шансов – 10,5.

- **Модель 6** (Апо А-IV, СЭФР) для перитонеальной жидкости, позволяющая разделить женщин контрольной группы и пациенток с I-II стадиями НГЭ. Уравнение лог – регрессии описывается следующим образом (таблица 41):
 $y = 0,00595 \times \text{СЭФР} - 0,46943 \times \text{Апо-АIV} + 7,08232$.

Таблица 41 – Результаты логистической регрессии для модели 6 (перитонеальная жидкость)

Лог-регрессия "Финальная"							
-2 Log Likelihood	R ² МакФадден	Хи-квадрат	Число степеней свободы	AIC	AICc	Значимость	Метод отбора переменных
22,652	0,372	13,392	2	30,652	32,557	0,0012	Прямой отбор
Коэффициенты лог-регрессии							
Фактор	Коэффициент	Стандартная ошибка	Коэффициент Вальда	Значимость	Отношение шансов	95% доверительный интервал отношения шансов	
						Минимум	Максимум
Константа	7,08234						
АПО АIV	-0,46943	0,1972	5,6648	0,0173	0,62536	0,42486	0,92048
СЭФР	0,00595	0,0037	2,5948	0,1072	1,00596	0,99871	1,01327

Для данной модели $AUC=0,89$ (Рисунок 36). Для обеспечения максимума чувствительности и специфичности теста, оптимальный порог соответствует 0,52. Чувствительность равна 84,62%, специфичность – 92,31%, отношение шансов – 39.

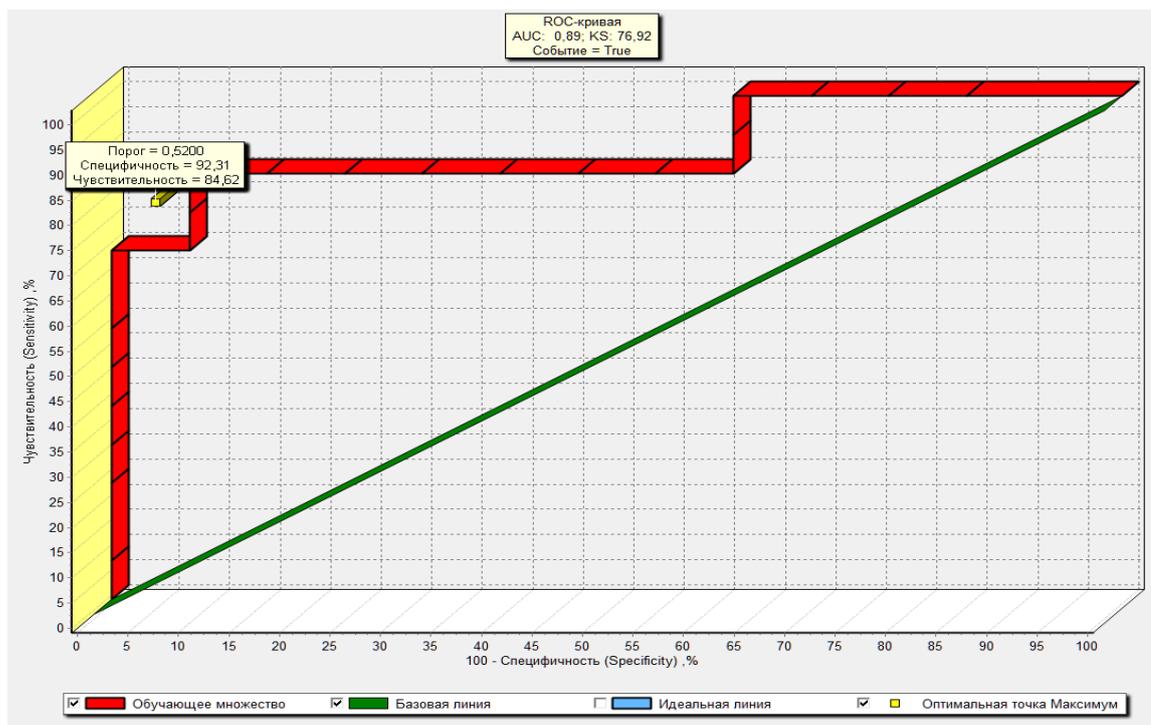


Рисунок 36 – ROC-кривая, прогнозирующая попадание пациенток в группу с I-II стадиями НГЭ для входных параметров Апо-АIV, СЭФР (перитонеальная жидкость).

- **Модель 7** (ГСПГ, С3, С 4-b) для перитонеальной жидкости, позволяющая разделить женщин контрольной группы и пациенток с III-IV стадиями НГЭ. Уравнение лог – регрессии (таблица 42):

$$y = 389,43106 \times C4b + 0,27086 \times \text{ГСПГ} - 9,11404 \times C3 + 3,25576.$$

Таблица 42 – Результаты логистической регрессии для модели 7 (перитонеальная жидкость)

Лог-регрессия "Финальная"							
-2 Log Likelihood	R ² МакФадден	Хи-квадрат	Число степеней свободы	AIC	AICc	Значимость	Метод отбора переменных
10,678	0,714	26,715	3	20,678	20,678	0,0000	Прямой отбор
Коэффициенты лог-регрессии							
Фактор	Коэффициент	Стандартная ошибка	Коэффициент Вальда	Значимость	Отношение шансов	95% доверительный интервал отношения шансов	
						Минимум	Максимум
Константа	3,25576						
С3	-9,11404	5,1607	3,1189	0,0774	0,00011	0,0	2,72097
ГСПГ	0,27086	0,1566	2,9934	0,0836	1,31109	0,96465	1,78193
С4	389,43106	265,7132	2,1480	0,1428	1,34202336291052E169	0,0	INF

Для данной модели $AUC=0,97$, что соответствует модели отличного качества (Рисунок 37). Оптимальным порогом классификации, обеспечивающим максимум чувствительности и специфичности теста, является точка 0,4815, в которой чувствительность равна 100%, специфичность – 85,71%, отношение шансов – 56.

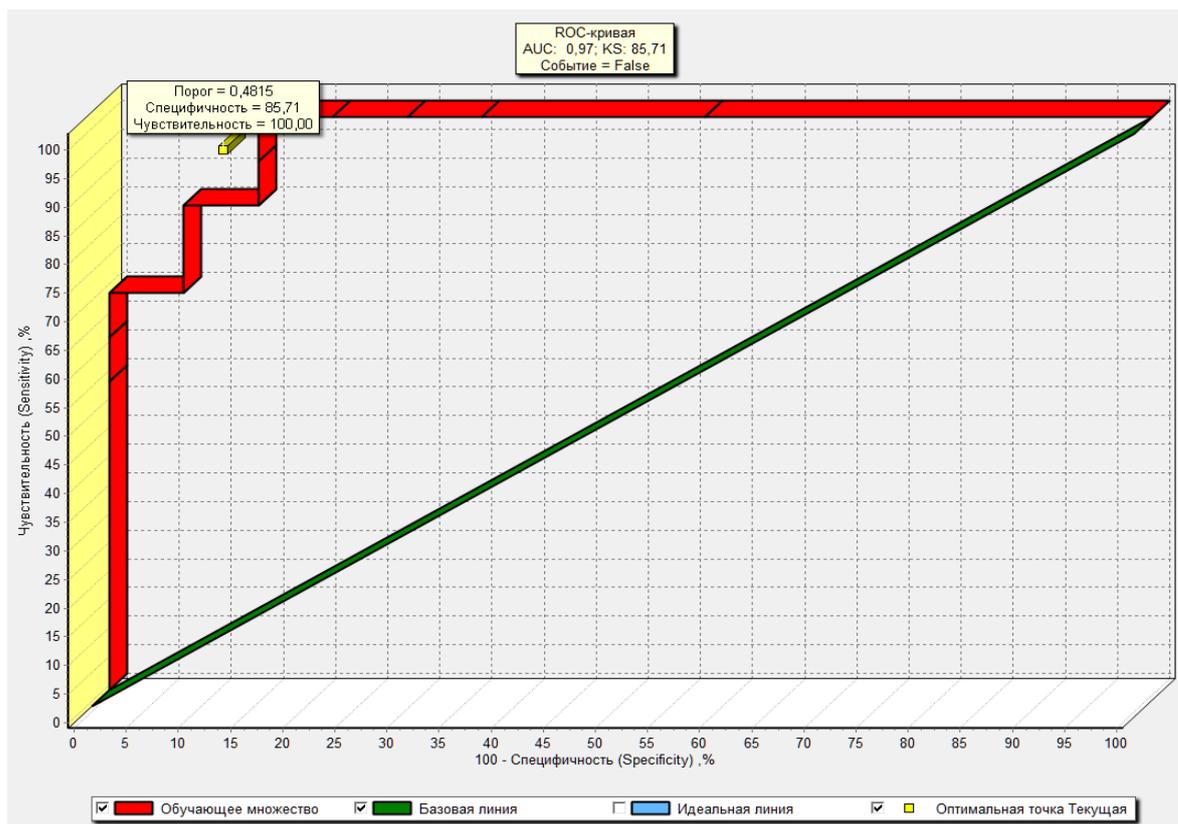


Рисунок 37 – ROC-кривая, прогнозирующая попадание пациенток в группу с III-IV стадиями НГЭ для входных параметров ГСПГ С3, С4-b, (перитонеальная жидкость).

- **Модель 8** (Апо-AIV, С3, С4-b) для перитонеальной жидкости, позволяющая разделить пациенток с I-II стадиями и III-IV стадиями НГЭ. Уравнение лог – регрессии (таблица 43):

$$y = 0,61711 \times \text{Апо-AIV} - 388,85453 \times \text{С4b} + 9,12131 \times \text{С3} - 18,69991.$$

Таблица 43 – Результаты логистической регрессии для модели 8 (перитонеальная жидкость)

Лог-регрессия "Финальная"							
-2 Log Likelihood	R ² МакФадден	Хи-квадрат	Число степеней свободы	AIC	AICc	Значимость	Метод отбора переменных
12,117	0,664	23,927	3	22,117	25,117	0,0000	Прямой отбор
Коэффициенты лог-регрессии							
Фактор	Коэффициент	Стандартная ошибка	Коэффициент Вальда	Значимость	Отношение шансов	95% доверительный интервал отношения шансов	
						Минимум	Максимум
Константа	-18,69991						
С3	9,12131	4,8550	3,5297	0,0603	9 148,20743	0,67404	124 161 936,84689
С4	-388,85453	232,9847	2,7856	0,0951	0,0	0,0	2,77452327602046E 29
АПО АIV	0,61711	0,4118	2,2452	0,1340	1,85357	0,82687	4,15509

Для данной модели $AUC=0,96$ (Рисунок 38). Оптимальным порогом классификации, обеспечивающим максимум чувствительности и специфичности теста, является точка $0,25$, в которой чувствительность равна 100% , специфичность – $84,62\%$, отношение шансов – 39 .

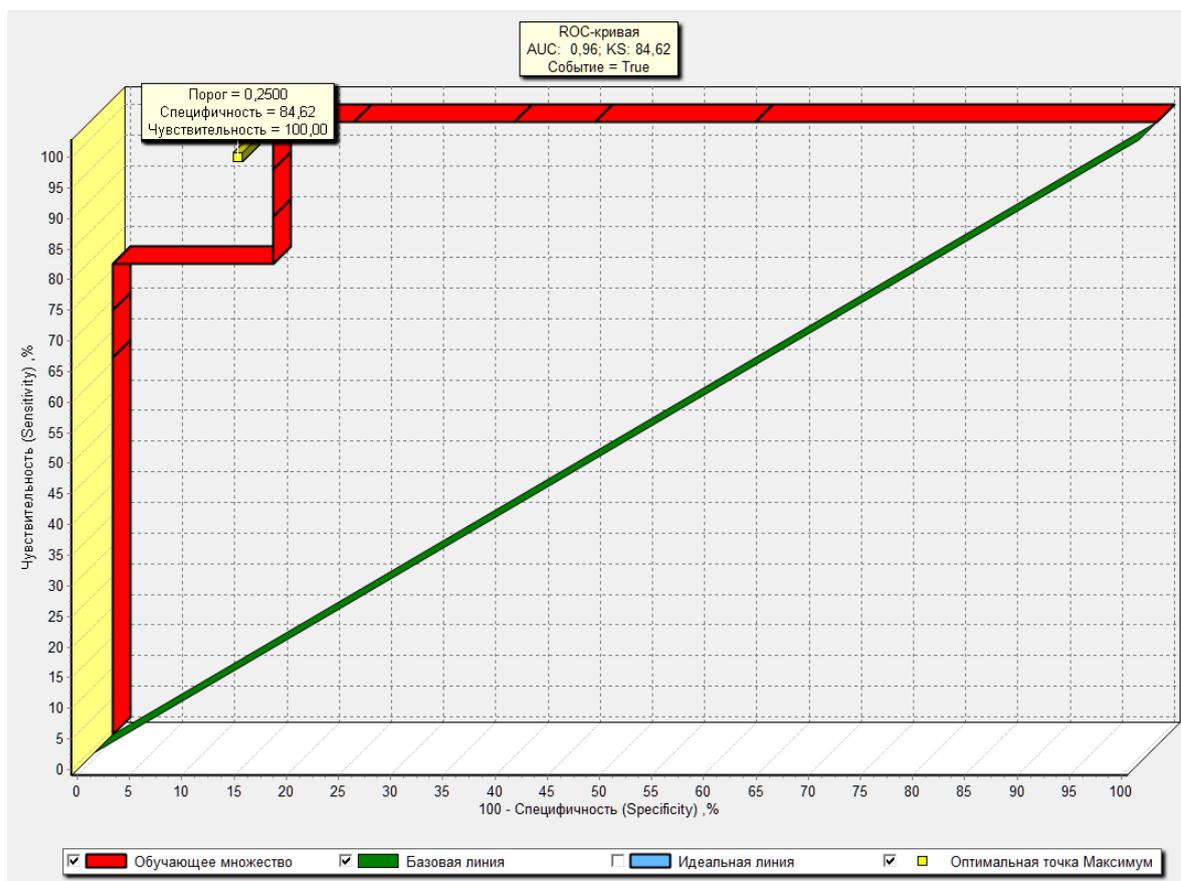


Рисунок 38 – ROC-кривая, прогнозирующая попадание пациенток в группу с I-II стадиями или в группу III-IV стадиями НГЭ для входных параметров С3, С4-b, Апо-АIV (перитонеальная жидкость).

С учетом полученных данных, лучшими для малоинвазивной диагностики эндометриоза являются модель 1 и модель 2. В состав обеих моделей, входят ГСПГ, Апо-АIV, С3 и С4-в, одновременное определение содержания которых в сыворотке крови позволяет диагностировать НГЭ (независимо от стадии) со специфичностью 96% и чувствительностью 92% и отличить пациенток с I-II и III-IV стадиями заболевания со специфичностью 100% и чувствительностью – 92%.

Таким образом, сочетание нескольких маркеров, выявленных с помощью протеомного анализа, способствует совершенствованию методов прогнозирования и диагностики эндометриоза за счет увеличения их чувствительности и специфичности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время эндометриоз обосновано признан самым распространенным и тяжелым заболеванием женщин репродуктивного возраста, отрицательно влияющим на общее состояние, работоспособность и качество жизни больных (Баскаков В.П. и соавт., 2002; Ищенко А.И. и соавт., 2002; Адамян Л.В., 2013; Краснопольский В.И. и соавт., 2013). Эндометриоз приводит к значительным нарушениям репродуктивной и менструальной функции, стойкому болевому синдрому, нарушению функции смежных органов, инвалидизации и, таким образом, перестает быть только медицинской проблемой, приобретая все более выраженное социальное значение (Адамян А.А., 1998). По данным популяционных исследований Всемирного исследовательского фонда эндометриоза (WERF) эндометриозом болеют более 176 млн. женщин в мире (до 10% женщин репродуктивного возраста) (Cramer D.W. et al., 2002), а экономические затраты на его лечение, реабилитацию и компенсацию потери трудоспособности составляют более \$76 млрд. в год, причем затраты, связанные с компенсацией потери трудоспособности, в 2 раза превышают затраты непосредственно на медицинское обслуживание. Частота эндометриоза не имеет тенденции к снижению и достигает 10% в популяции (Giudice L.C., 2010). По данным Росстата заболеваемость эндометриозом в РФ в 2012 г. составила 435,6 случая на 100 000 взрослого женского населения, в 2013 г. – 435,1. Интересно, что сальпингит и оофорит составил 1146,1 и 1107,6 соответственно. В Южном Федеральном округе показатели регистрации эндометриоза оказались ниже общероссийских и составили 269,8 и 283,0 соответственно.

Среди женщин с сохраненной репродуктивной функцией эндометриоз встречается в 6-7% случаев, в то время как бесплодие – 30-50% случаев, при этом до 30% обращений в отделения ВРТ составляют пациентки с данным заболеванием (Адамян Л.В. и соавт., 2010; Surrey E.S., 2013; Shu –Huei K. et al., 2005; Leyland N. et al., 2010). Необходимость использования ВРТ ЭКО и ПЭ при эндометриозе связана с крайне низкой эффективностью методов восстановления

естественной фертильности, особенно при тяжелых формах эндометриоза (Корсак В.С. и соавт., 2006; Адамсон Г.Д., 2009).

К демонстративным показателям влияния эндометриоза на репродуктивное здоровье относится коэффициент фертильности, который рассчитывается как отношение числа рождений к численности женщин репродуктивного возраста. Коэффициент фертильности у здоровых женщин равен 0,15-0,20, а у больных с эндометриозом – 0,02 – 0,10 (Surrey E.S., 2013).

Эндометриоз рассматривается как дисгормональное, иммунозависимое и генетически детерминированное заболевание, характеризующееся присутствием эктопического эндометрия с признаками клеточной активности и его разрастанием (Ярмолинская М.И., 2008; Адамян Л.В. и соавт., 2013; Trovo de Marqui A., 2012).

Анализ значительного количества публикаций, посвященных эндометриозу, свидетельствует о том, что до настоящего времени отсутствует единое мнение о его этиологии и патогенезе (Agarwal N., Subramanian A., 2010; Burney R.O., Giudice L.C., 2012; Acien P., Velasco I., 2013; Begum T.S., Chowdhury R., 2013; Aznaurova Y.B. et al., 2014). Однако ученые сходятся во мнении, что заболевание носит мультифакториальный характер, включая эндокринные, иммунологические, метаболические, генетические факторы (Марченко Л.А., Ильина Л.М., 2011). Вместе с тем в отношении роли гормональных и иммунологических нарушений в патогенезе эндометриоза необходимо подчеркнуть, что они не являются непосредственной причиной формирования эндометриоидных фокусов, а только способствуют этим процессам, т.е. играют роль факторов (пусковых механизмов), предрасполагающих к возникновению патологического процесса (Пашков В.М. и соавт., 2007). Большое количество работ посвящено выяснению патогенеза бесплодия у больных эндометриозом. Целый ряд авторов (Волков Н.И., 1999; Баскаков В.П. и соавт., 2002; Ledger W.L., 1999) в качестве причины бесплодия при эндометриозе рассматривает нарушения в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системе, следствием которых являются ановуляция, недостаточность функции желтого тела, синдром неовулировавшего фолликула, нарушение

соотношения эстрогенных фракций в сторону повышения экскреции эстрона и эстрадиола.

По-видимому, важным пусковым механизмом развития выше названных нарушений при эндометриозе могут быть специфические молекулярные процессы, которые включают изменение экспрессии транскрипционных факторов, посттрансляционную модификацию, а также изменение секреции и активности разнообразных регуляторных белков (Bulun S.E. et al., 2000).

Сложность и многофакторность заболевания, недостаточная изученность его патогенеза обуславливают отсутствие единого подхода к диагностике и лечению НГЭ.

Возможности диагностики НГЭ во многом определяются степенью тяжести и стадией заболевания. Особенно сложна и в то же время чрезвычайно важна диагностика его ранних стадий. Это подтверждается тем, что почти 90% женщин, страдающих эндометриозом, до момента установления истинного диагноза от 1 года до 7 лет наблюдаются с диагнозом «хронический сальпингоофорит» (Беспалова Ж.В. и соавт., 2004).

«Золотым» стандартом диагностики остается лапароскопия с последующим гистологическим исследованием биоптатов, хотя существует мнение о том, что эмпирическая терапия эндометриоза не требует хирургического подтверждения диагноза (Verchillini P. et al., 2008). Однако частота гистологического подтверждения диагноза колеблется от 70 до 85% (Баскаков В.П. и соавт., 2002).

Vouk K. и соавт. (2012) исследовали около 100 потенциальных биомаркеров эндометриоза, но ни один из них не стал значимым в клинической практике. Наиболее изученным маркером эндометриоза является СА-125, однако Mol B.W. и соавт (1998) доказали, что этот антиген информативен только для выраженного эндометриоза – III и IV стадии. При поздних стадиях НГЭ добиться положительного результата от лечения очень сложно, поэтому поиск биомаркеров, ассоциированных с ранними стадиями эндометриоза, является особенно актуальным.

В последние годы инновационным и перспективным направлением при разработке способов диагностики различных заболеваний является использование постгеномных технологий, в частности протеомики, область применения которой тесно связана с поиском прогностических и диагностических маркеров. Кроме того, исследование протеомной динамики является необходимым условием для понимания молекулярных механизмов формирования патологии (Ивахно С., Корнелюк А., 2006).

Наиболее точно механизмы развития и прогрессирования НГЭ можно установить, изучив патогенетическое звено на локальном уровне, непосредственно вблизи очагов эндометриоза (Кондратьева П.Г., 2007). Возможность эктопического прикрепления эндометрия во многом определяется изменениями как в клетках эндометрия, так и брюшине, особенно в перитонеальной жидкости, молекулярные модификации в которой часто являются наиболее ранним признаком патологического процесса. Основными биологическими модуляторами, локализованными внутри этой микросреды, являются белки, реализующие информационную программу клеток и играющие ключевую роль в многочисленных процессах, происходящих в организме на молекулярном уровне. Поэтому изучение их продукции будет способствовать уточнению патогенетических аспектов развития НГЭ и оптимизации диагностики этого заболевания и его стадий с помощью выявления специфических информативных маркеров, что и явилось основной задачей настоящего исследования.

В работу включены материалы наблюдения за 88 женщинами, проходившими обследование и лечение в отделении гинекологии ФГБУ «РНИИАП» с 2012 по 2014 гг. В ходе проводимого нами исследования все больные были разделены на 3 клинические группы: 1-ю группу составили 28 больных с I-II стадиями НГЭ по классификации r-AFS (1996), 2-ю группу – 30 пациенток с III-IV стадиями заболевания. 3-ю контрольную группу составили 30 пациенток без эндометриоза. Все клинические исследования проводились у

пациенток с получением информированного согласия и протоколировались по стандартам Этического комитета Российской Федерации.

Клинический анализ показал, что время наступления менархе и продолжительность менструального цикла у пациентов с НГЭ не отличались от таковых у пациенток контрольной группы. Различие заключалось в продолжительности менструации более 5 дней, которое имеет место у 41,3% больных с НГЭ.

Более чем у половины пациенток с НГЭ (63,7%) была обнаружена дисменорея, причем при I-II стадиях – у 50%, а при III-IV – у 76,7% больных. Синдром тазовых болей в исследовании имел место у 32,7% пациенток, дисменорея – у 63,7%, диспареуния – 13,8%, меноррагии – у 19% и кровянистые выделения – у 17,2% женщин.

Важно подчеркнуть, что в группах с НГЭ имеет место не только первичное бесплодие (51,7%), но и вторичное бесплодие (18,9%), хотя преобладает первичное. Обращает на себя внимание больший (64,3%) процент первичного бесплодия у пациенток с минимальными проявлениями НГЭ, тогда как при более тяжелом поражении оно обнаружено только у 40% женщин. Приблизительно в 3 раза реже имело место вторичное бесплодие у пациенток с НГЭ, которое по клиническим группам составило 21,4% и 16,6% соответственно.

При I-II стадиях НГЭ первичное бесплодие менее 5 лет наблюдалось у 60,7% больных, тогда как у пациенток с III-IV стадиями заболевания – только у 33,3%. Бесплодие более 5 лет как при первичном, так и при вторичном бесплодии имело место от 3,6 до 6,7% случаев.

Обращает на себя внимание тот факт, что 14,3% женщин с минимальными проявлениями эндометриоза и 43,3% с более тяжелыми поражениями использовали методы оральной гормональной контрацепции. Эмпирическое назначение КОК по поводу дисменореи достаточно широко распространено, но часто проводится в циклическом режиме и со значительными перерывами в лечении. Согласно данным исследования Chapron С. и соавт. (2011), использование ранее КОК коррелирует с хирургически подтвержденным

эндометриозом в последующем, так назначение этих препаратов по поводу тяжелой первичной дисменореи коррелирует с глубокими инвазивными формами заболевания.

Анализ проведенных лапароскопических операций показал, что наиболее высокой (50%) оказалась частота эндометриoidных кист, что свидетельствует о несвоевременной диагностике эндометриоза яичников. Поверхностные очаги эндометриоза на яичниках были обнаружены в 32,7% случаев. По нашим данным при лапароскопии подкапсулярные желтые тела обнаружены у 40% пациенток с эндометриoidными кистами яичников, что подтверждает также вышеуказанный факт. Интересно отметить, что при эндоскопическом обследовании женщин с НГЭ I-IV степени распространенности и бесплодием обнаружил овуляторное отверстие (стигму) в желтом теле яичника у 19,2% пациенток, тогда как в контрольной группе (больные с перитонеальной формой бесплодия) – у 91,3% (Волков Н.И. 1999). Это свидетельствует о том, что, истинная овуляция у женщин с бесплодием и НГЭ наблюдается не во всех менструальных циклах, несмотря на их регулярный характер.

На брюшине малого таза эндометриоз был обнаружен в 69% случаев на крестцово-маточных связках, в 74,1% случаев – в прямокишечно-маточном углублении, пузырно-маточное пространство имело очаги в 22,4% случаев.

Учитывая особую роль в формировании и развитии эндометриоза процессов, происходящих на локальном уровне, на первом этапе исследования проведен качественный протеомный анализ перитонеальной жидкости у пациенток с НГЭ и идентифицированы белки отличия относительно перитонеальной жидкости женщин контрольной группы.

В протеомном спектре перитонеальной жидкости при НГЭ отмечено изменение продукции ряда белков, участвующих в регуляции действия гормонов, редокс-процессов, апоптоза, ангиогенеза, воспаления и иммунного ответа. Причины такой модификации протеомного состава могут быть различны. Появление в перитонеальной жидкости определенных белков вызвано, по-видимому, усилением их продукции и/или секреции перитонеальными

макрофагами, клетками эндометриоидных гетеротопий и эндотелия (Соколов Д.И., 2005; Сельков С.А., 2005; Seli E. et al., 2003; Dmowski W.P. et al., 2004; Nap A.W. et al., 2004). Напротив, отсутствие при данной патологии тех или иных белков может быть связано с подавлением синтеза и нарушением секреции, а также с повышением протеолиза этих белковых молекул.

Выявленные изменения в протеоме перитонеальной жидкости при НГЭ в подавляющем большинстве имеют негативный характер, что связано с выполнением этими белками важных функций в обеспечении локального физиологического гомеостаза.

Так, подавление экспрессии при НГЭ антиангиогенного и антипролиферативного **фактора дифференцировки пигментного эпителия**, очевидно, приводит к снижению апоптоза эндометриальных клеток и усилению ангиогенеза, способствуя имплантации и росту эктопического эндометрия.

Не обнаруженный в перитонеальной жидкости при НГЭ **транстиретин** играет важную роль в поддержании пула несвязанных тиреоидных гормонов, которые модулируют клеточные эффекты эстрогенов (Richardson S.J., 2007). Локальный избыток гормонов в щитовидной железе, опосредованный снижением продукции и (как следствие) секреции указанного белка, вызывает поражение репродуктивных органов, ухудшая течение эндометриоза (Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2002).

При указанной патологии также не выявлен **α -1-антитрипсин** – ингибитор сериновых протеаз, которые непосредственно вовлечены в процессы инвазии эндометриальных клеток (Дедуль М.И. и соавт., 2006), что обуславливает локальный дисбаланс в системе протеаза-ингибитор, способствуя имплантации эндометриальных клеток.

Отсутствие неферментативного антиоксиданта **гаптоглобина** в перитонеальной жидкости, можно полагать, вносит вклад в усиление развивающегося при эндометриозе окислительного стресса (Wassell J., 2000).

Важную роль в регуляции иммунного ответа выполняет секретлируемый макрофагами **ингибитор апоптоза 6**, подавляя апоптоз Т-лимфоцитов и НК-

клеток (Sarrias M.R. et al., 2005). Возможно, что снижение экспрессии этого белка является причиной дисбаланса иммунокомпетентных клеток в перитонеальной жидкости при эндометриозе, отмеченного рядом авторов (Berkanoglu M. et al., 2003). В результате таких иммунологических нарушений происходит формирование и прогрессирование очагов эндометриоза.

Наряду с отсутствием вышеуказанных белков в перитонеальной жидкости пациенток основной группы установлено появление следующих белков: ГСПГ, Апо-AIV, компонентов системы комплимента C3 и C4b, не обнаруженных у женщин контрольной группы.

Повышение продукции ГСПГ, регулирующего биологическую активность стероидных гормонов, может приводить к нарушению баланса между свободными и связанными эстрогенами, а его гиперсекреция защищает эстрогены от катаболизма и повышает их доступность для эндометриальных клеток (Hammond G.L., 2011). В результате этого становится возможным увеличение пролиферативного потенциала клеток эндометриоидных гетеротопий в условиях локальной гиперэстрогении (Адамян Л.В. и соавт., 2006).

Поскольку именно повышенная продукция определяемого белка наиболее часто является диагностическим/прогностическим критерием развития того или иного патологического процесса, на втором этапе исследования методом ИФА нами в перитонеальной жидкости и сыворотке крови были определены количественные показатели этих белков отличия.

В перитонеальной жидкости отмечено повышение концентрации ГСПГ при I-II и III-IV стадиях НГЭ. Аналогичная динамика данного показателя обнаружена и в сыворотке крови.

Для III-IV стадий НГЭ как в перитонеальной жидкости, так и в сыворотке крови обнаружено повышение уровня C3, участвующего в элиминации апоптозных клеток и иммунных комплексов. Активация продукции этого компонента, очевидно, играет немаловажную роль в формировании и прогрессировании НГЭ, а также связанного с ним бесплодия (Kabut J. et al., 2007).

Обращает на себя внимание, что наряду с негативными последствиями модификации протеомного спектра при эндометриозе, увеличение продукции Апо-АIV, по-видимому, имеет компенсаторное значение в условиях окислительного стресса и воспаления, сопровождающих развитие данной патологии. С одной стороны, этот белок оказывает антиоксидантное действие за счет ингибирования перекисного окисления липидов (Spaulding H.L. et al., 2003). С другой, индукция экспрессии Апо-АIV может приводить к повышению уровня ЛПВП, обладающих противовоспалительными свойствами (Nagasawa M., 2009). Количественное определение Апо-АIV позволило установить повышение содержания этого белка при НГЭ как на локальном, так и на системном уровне независимо от стадии заболевания.

На основании полученных данных разработан способ диагностики ранних стадий НГЭ (патент № 2571291 от 15.08.2014). Нами установлены диагностические параметры развития ранних стадий НГЭ по определению соотношения в сыворотке крови ГСПГ/ Апо-АIV, при величине которого в пределах 1,9- 2,3 – диагностируют I стадию НГЭ, а при величине 2,4 – 2,7 – II стадию НГЭ. Данный метод повышает чувствительность и специфичность диагностики до 98%, что позволяет своевременно назначать соответствующую адекватную патогенетическую терапию.

В патогенезе НГЭ на сегодняшний день значительная роль отводится процессам ангиогенеза и апоптоза (May, K., Becker C.M., 2008; Agic A., 2009; Taylor R.N.; 2009; Taniguchi F., 2011; Hey-Cunningham A.J., 2013; Reis E.S., 2013). Среди клеточных регуляторов, ответственных за эти процессы, важное значение принадлежит таким белковым молекулам как СЭФР и FASL.

Одним из главных факторов, обеспечивающих регуляцию ангиогенеза, является СЭФР. Его отличием от других эндотелиальных факторов роста является то, что он обладает способностью к стимуляции селективного роста эндотелиальных клеток и сосудистой проницаемости (Бурлев В.А., 2012; Clauss M., 2010).

Повышение содержания СЭФР в перитонеальной жидкости при III-IV стадиях НГЭ поддерживает ангиогенный потенциал и, как следствие, способствует дальнейшему существованию гетеротопий на брюшине. Кроме того, СЭФР обладает антиапоптозным действием на стромальные клетки эндометрия, действуя через систему FAS/sFASL, снижая экспрессию sFASL (Кондратьева П.Г., 2010).

Выделяют несколько причин нарушений процессов апоптоза при НГЭ, среди которых особое значение уделяется FAS-опосредованному механизму (Lebovic D.I. et al., 2001; Garcia-Velasco J.A., 2003). Уменьшение уровня sFASL в перитонеальной жидкости при III-IV стадиях заболевания, очевидно, указывает на снижение апоптоза на локальном уровне, вследствие чего повышается пролиферативная активность эндометриоидных клеток и усиливается их способность к аномальной имплантации, выживанию и росту в эктопических очагах (Марченко Л.А., Ильина Л.М., 2011). Сходная динамика уровня sFASL отмечается при I-II стадиях НГЭ в сыворотке крови.

С учетом изученных нами параметров белкового спектра и клеточных регуляторов, представляется целесообразным рассмотреть механизм апоптоза с новых позиций. Как уже было описано ранее, при НГЭ нами не обнаружен в перитонеальной жидкости ингибитор апоптоза β . Известно, что уменьшение его экспрессии приводит к усилению апоптоза цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток, а также макрофагов в перитонеальной полости, и, как следствие, снижению активности этих клеток (Arici A. et al., 1998; Zeyneloglu H.B. et al., 1998; Bruner-Tran K.L. et al., 2006). Именно дефицит их активности может определить имплантацию и развитие заносимых в брюшную полость частиц эндометрия.

Также в проведенном исследовании при НГЭ не обнаружен фактор дифференцировки пигментного эпителия, который играет опосредованную роль в апоптозе, стимулируя выработку sFASL. Установленное нами уменьшение уровня sFASL в перитонеальной жидкости приводит к снижению апоптоза клеток эндометриоидных гетеротопий.

Уменьшение чувствительности эндометриоидных клеток к апоптозу, с одной стороны, и спонтанный апоптоз клеток иммунной системы, с другой стороны, способствуют пролиферации и росту эндометриоидных имплантов в брюшной полости (Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2002; Chung H.W. et al., 2001; Nasu K. et al., 2005). В свою очередь, развитие очагов эндометриоза повышает выработку иммуносупрессивных агентов, которые определяют дальнейшее понижение активности НК-клеток, ухудшение иммунного контроля, развитие воспалительной реакции и прогрессирование эндометриоза (Пашков В.М. и соавт., 2007).

Следует отметить, что в работе впервые выявлено увеличение экспрессии Апо-AIV при НГЭ в сыворотке крови и перитонеальной жидкости. Помимо выше указанных функций, данный белок снижает редокс-зависимый апоптоз иммунокомпетентных клеток (Spaulding H.L. et al., 2003). Этот механизм, вероятно, является компенсаторной реакцией, направленной на сохранение иммунологической защиты брюшины малого таза.

При проведении корреляционного анализа представленных данных обнаружены положительные связи между показателями С3 и С4b в сыворотке крови ($r=0,9$) и в перитонеальной жидкости ($r=0,7$) в группе с НГЭ I-II стадий. При этом выявлена отрицательная связь между sFASL и С4-b ($r= - 0,5$). При III-IV стадиях НГЭ обнаружены положительные связи между СЭФР и sFASL в сыворотке крови ($r=0,05$) и перитонеальной жидкости ($r=0,6$), а также положительные связи между Апо-AIV и СЭФР-R1 ($r=0,6$).

С использованием метода «Дерева решений», логистической регрессии и ROC-анализа был проведен многофакторный анализ моделей (комбинации показателей) для определения их диагностической чувствительности и специфичности в качестве маркеров НГЭ. С учетом полученных данных лучшими для малоинвазивной диагностики являются:

– модель 1: ГСПГ, Апо-AIV, С3, С4-b, позволяющая отличить здоровых женщин от женщин с НГЭ (специфичность 92,86%, чувствительность 96,43%, AUC = 0,94).

– модель 2: ГСПГ, Апо-АIV, С3, С4-b, позволяющая отличить женщин контрольной группы и пациенток с I-II стадиями (специфичность 92,31%, чувствительность 100%, AUC = 0,95).

Комбинирование протеомных маркеров способно увеличивать специфичность и чувствительность диагностических тестов. Исследование этих показателей у пациенток с подозрением на НГЭ может быть рекомендовано для практического использования.

Полученные данные расширяют наши представления о молекулярных механизмах, позволяющих функционировать эндометриальным клеткам вне зоны физиологического роста. Модификация экспрессии регуляторных белков, по-видимому, является одним из важных патогенетических факторов, способствующих развитию и прогрессированию НГЭ. Результаты исследований позволили предложить комбинацию нескольких информативных маркеров для диагностики НГЭ и его стадий.

ВЫВОДЫ

1. В анамнезе пациенток с НГЭ вне зависимости от стадии заболевания преобладают: длительные менструации (41,3%), дисменорея (63,7%), первичное бесплодие (51,7%). При формировании I-II стадий заболевания значение имеют ИПП (50%) и перенесенные воспалительные заболевания органов малого таза (50%).

2. Протеомный спектр перитонеальной жидкости при эндометриозе характеризуется отсутствием 5 белков: фактора дифференцировки пигментного эпителия, транстретина, гаптоглобина, α -1-антитрипсина, ингибитора апоптоза-6 и появлением 4 белков отличия: Апо-AIV, ГСПГ, компонентов системы комплемента C3 и C4-b.

При I-II стадиях НГЭ имеет место повышение уровня Апо-AIV и ГСПГ в сыворотке крови и перитонеальной жидкости, при III-IV стадиях заболевания – увеличение содержания Апо-AIV, ГСПГ и C3.

3. I-II стадии НГЭ отличаются снижением в сыворотке крови содержания sFASL, при III-IV стадиях заболевания имеет место снижение в перитонеальной жидкости уровня sFASL и повышение – СЭФР.

4. При эндометриозе в сыворотке крови и перитонеальной жидкости обнаруживается отрицательная корреляционная связь между sFASL и C4-b и положительная – между Апо-AIV и СЭФР-R1, sFASL и СЭФР, C3 и C4-b.

5. Проведенный статистический анализ с помощью оценки 3D-графической прогностической поверхности, метода «деревьев решений», логистической регрессии и ROC-анализа, позволил предложить для диагностики НГЭ определение комбинации белков, обладающей высокой чувствительностью и специфичностью: для I-II стадий – Апо-AIV, ГСПГ и sFASL, для III-IV стадий – Апо-AIV, ГСПГ и C3.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

При подозрении на НГЭ у пациенток рекомендуется определять в сыворотке крови содержание Апо-АIV и ГСПГ. Если уровень в сыворотке крови Апо-АIV менее 44,17 мкг/мл и ГСПГ менее 70,57 нмоль/л – диагноз НГЭ не подтверждается. При значении сывороточного уровня Апо-АIV более 44,17 мкг/мл и ГСПГ более 70,57 нмоль/л – диагностируется НГЭ. Для дифференциальной диагностики стадий НГЭ рекомендовано рассчитывать коэффициент отношения ГСПГ/Апо-АIV и при его величине 2,7 и меньше диагностировать I- II стадии НГЭ, а при величине больше 2,7 – III-IV стадии заболевания.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМГ	антимюллеров гормон
АТФ	аденозинтрифосфат
Апо-AIV	аполипопротеин AIV
АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время
ВЗОМТ	воспалительные заболевания органов малого таза
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВРТ	вспомогательные репродуктивные технологии
ГСПГ	глобулин, связывающий половые гормоны
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИЛ	интерлейкин
ИППП	инфекции, передаваемые половым путем
ИФА	иммуноферментный анализ
КОК	комбинированные оральные контрацептивы
ЛГ	лютеинизирующий гормон
ЛПВП	липопротеины высокой плотности
ЛПОНП	липопротеины очень низкой плотности
МНО	международное нормализованное отношение
МРТ	магнитно-резонансная томография
НГЭ	наружный генитальный эндометриоз
oФРФ	основной фактор роста фибробластов
ПТИ	протромбиновый индекс
ПЭ	перенос эмбриона
РНК	рибонуклеиновая кислота
РФМК	растворимые фибринмономерные комплексы
РЭА	раково-эмбриональный антиген
СЭФР	сосудисто-эндотелиальный фактор роста
СЭФР-R1	рецептор СЭФР

T3	трийодтиронин
T4	тироксин
ТТГ	тиреотропный гормон
УЗИ	ультразвуковое исследование
ФНО- α	фактор некроза опухолей- α
ФСГ	фолликулостимулирующий гормон
цАМФ	циклический аденозинмонофосфат
ЭКГ	электрокардиография
ЭКО	экстракорпоральное оплодотворение
Api 6	Apoptosis inhibitor 6 - ингибитор апоптоза 6
AUC	area under ROC-curve – площадь под ROC-кривой
CA	cancer antigen – раковый антиген
ESHRE	European Society of Human Reproduction and Embryology – – Европейское общество по репродукции и эмбриологии человека
sFASL	FAS лиганд
MALDI- TOF-MS	matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry – матрично-ассоциированная лазерная десорбция/ ионизация времяпролетная масс-спектрометрия
Mm	молекулярная масса
NF-kB	транскрипционный фактор kB
NK	natural killers – естественные киллеры
PEDF	pigment epithelium-derived factor - фактор дифференцировки пигментного эпителия
pI	изоэлектрическая точка
r-AFS	revised Classification of American Fertility Society – пересмотренная классификация Американского общества фертильности
ROC	receiver operating characteristic
RW	реакция Вассермана

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамсон, Г. Д. Эндометриоз, бесплодие и вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) (пер. с англ. О. Л. Глазковой) [Текст] / Г. Д. Адамсон // Проблемы репродукции. – 2009. – № 5. – С. 25–29.
2. Адамян, Л. В. Проллиферативная активность эктопического и эутопического эндометрия при различных локализациях очагов эндометриоза: что нового? [Текст] / Л. В. Адамян, О. В. Зайратьянц, Ю. В. Максимова, К. Н. Арсланян, М. М. Сонова, О. Н. Логинова, З. Х. Мурдалова, И. П. Зарубина // Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний, XXIII Международный конгресс с курсом эндоскопии. – М., 2010. – С. 150–151.
3. Адамян, Л. В. Проект «Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация». Федеральные клинические рекомендации по ведению больных [Текст]. – Москва, 2013. – С. 58.
4. Адамян, Л. В. Эндометриозы [Текст] / Л. В. Адамян, В. И. Кулаков, Е. Н. Андреева // Руководство для врачей. – М: Медицина, 2006. – 416 с.
5. Адамян, Л. В. Эндометриозы: руководство для врачей [Текст] / Л. В. Адамян, В. И. Кулаков. – М: Медицина, 1998. – 317 с.
6. Алиханова, З. М. Биологические свойства перитонеальной жидкости в норме и при патологии репродуктивной системы [Текст] / З. М. Алиханова // Акушерство и гинекология. – 1991. – № 9. – С. 3–8.
7. Антонова, С. О. Клиническая роль молекул адгезии в патогенезе и диагностике наружного генитального эндометриоза [Текст]: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.01 / Антонова Светлана Олеговна. – М., 2012. – 26 с.
8. Арчаков, А. И. Постгеномные технологии и молекулярная медицина [Текст] / А. И. Арчаков // Вест. РАН. – 2004. – Том 74, № 5. – С. 423–428.
9. Баранов, В. С. Эндометриоз как проблема системной генетики [Текст] / В. С. Баранов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – Том LXII, Выпуск 1. – С. 71–78.

10. Баскаков, В. П. Эндометриоидная болезнь [Текст] / В. П. Баскаков, Ю. В. Цвелев, Е. Ф. Кира // Санкт-петербург: Изд-во Н-Л, 2002. – 452 с.
11. Баскаков, В. П. Эндометриоидная болезнь [Текст] / В. П. Баскаков, Ю. В. Цвелев, Е. Ф. Кира // Санкт-Петербург: Изд-во Н-Л, 2002. – 452 с.
12. Бердашкевич, И. В. Нарушение функции щитовидной железы и репродуктивное здоровье женщин [Текст] / И. В. Бердашкевич, И. Е. Корнеева, В. В. Фадеев и др. // Проблемы репродукции. – 2008. – № 5. – С. 24–34.
13. Беспалова, Ж. В. Ранняя диагностика генитального эндометриоза у женщин с бесплодием [Текст] / Ж. В. Беспалова, Н. И. Волков, В. И. Кулаков // Журнал Акушерства и женских болезней. – 2004. – № 2. – С. 11–15.
14. Бурлев, В. А. Про- и антиинфламаторная активность у больных с перитонеальной формой эндометриоза и спайками брюшины малого таза [Текст] / В. А. Бурлев, Е. Д. Дубинская, Н. А. Ильясова, А. В. Бурлев, А. С. Гаспаров // Проблемы репродукции. – 2012. – № 4. – С. 6–11.
15. Бурлев, В. А. Клинико-диагностическое значение сосудисто-эндотелиального фактора роста при ретроцервикальном эндометриозе [Текст] / В. А. Бурлев, С. А. Гаспарян, С. В. Павлович, Л. В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2002. – № 6. – С. 44–47.
16. Волков, Н. И. Патогенез бесплодия при наружном генитальном эндометриозе [Текст] / Н. И. Волков // Проблемы репродукции. – 1999. – № 2. – С. 56–58.
17. Вихляева, Е. М. Эндометриоз [Текст] / Е. М. Вихляева, Б. И. Железнов // Руководство по эндокринной гинекологии. – М.: Мед. информ. агенство, 1998. – С. 487–571.
18. Гаврилова, Т. Ю. Современные методы визуализации, калликреин-кининовая система, онкомаркеры в диагностике и мониторинге распространенных форм эндометриоза [Текст]: дис. ...канд. мед. наук: 14.00.01 / Гаврилова Татьяна Юрьевна. – Москва, 2002. – 144 с.

19. Герасимов, А. М. Особенности протеазной и антипротеазной активности крови у женщин с наружным эндометриозом [Текст] / А. М. Герасимов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 3. – С.14–16.
20. Говорун, В. М. Протеомные технологии в современной биомедицинской науке [Текст] / В. М. Говорун, А. И. Арчаков // Биохимия. – 2002. – Том 67, № 10. – С. 1341–1359.
21. Громов, П. С. От геномики к протеомике [Текст] / П. С. Громов, Х. Э. // Молекулярная биология. – 2000.– Том 34, № 4. – С. 597–611.
22. Дамиров, М. М. Генитальный эндометриоз – болезнь активных и деловых женщин [Текст] / М. М. Дамиров. – М.: Бином-Пресс, 2010. – 192 с.
23. Дедуль, М. И. Система протеолиза в сыворотке крови и перитонеальной жидкости при хирургическом лечении больных эндометриозом [Текст] / М. И. Дедуль, Л. Е. Радецкая, Л. Н. Кирпиченок // Новости хирургии. – 2006. – № 3. – С.74–80.
24. Ермолова, Н. В. Патогенетическая роль эндотелиальных факторов и половых гормонов в формировании наружного генитального эндометриоза [Текст] / Н. В. Ермолова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – Том 8, № 3. – С. 29–32.
25. Ермолова, Н. В. Патогенетические механизмы формирования наружного генитального эндометриоза и его стадий у пациенток репродуктивного возраста [Текст]: автореф. дис. ...докт. мед. наук: 14.00.01 / Ермолова Наталья Викторовна. – Ростов-на-Дону, 2009. – 26 с.
26. Ермолова, Н. В. Изменение экспрессии ангиогенных факторов роста и их рецепторов в развитии бесплодия при наружном генитальном эндометриозе [Текст] / Н. В. Ермолова // Вестник ВолГМУ. – 2009. – № 2. – С. 15–19.
27. Зорина, В. Н. Клиническая оценка вариаций белков острой фазы и цитокинов в крови и перитонеальной жидкости больных эндометриозом [Текст] / В. Н. Зорина, Т. В. Третьякова, Л. Г. Баженова, И. Г. Козлов, Р. М. Зорина, Т. Г. Рябичева, Н. А. Зорин // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2010. – Том 9, № 1. – С. 22–24.

28. Ищенко, А. И. Эндометриоз: диагностика и лечение [Текст] / А. И. Ищенко, Е. А. Кудрина. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 104 с.
29. Ивахно, С. Количественная протеомика и ее применение в системной биологии [Текст] / С. Ивахно, А. Корнелюк // Биохимия . – 10/2006 . – Том 71, № 10. – С. 1312–1327.
30. Калинина, Н. М. Некоторые иммунологические аспекты эндометриоза у женщин детородного возраста с нарушением фертильности [Текст] / Н. М. Калинина, Е. А. Михнина, Н. И. Давыдова, В. Н. Эллиниди // Russian Journal of Immunology. – 2005. – Vol. 9, Suppl. 2. – P. 24–33.
31. Калинина, Е. А. Рецептивность эндометрия у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием [Текст] / Е. А. Калинина, А. В. Колотовкина, Е. А. Коган, Л. В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2012. – № 4. – С. 55–62.
32. Качалина, Т. С. Современные представления о патогенезе наружного генитального эндометриоза [Текст] / Т. С. Качалина, М. В. Семериков, Л. П. Стронгина // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 1. – С. 117–122.
33. Кира, Е. Ф. Эндометриозидная болезнь. Современные принципы лечения [Текст] / Е. Ф. Кира, И. И. Ермолинский, А. И. Мелько // Гинекология. – 2004. – Том 6, № 5. – С. 231–237.
34. Кира, Е. Ф. Оценка качества жизни при эндометриозидной болезни [Текст] / Е. Ф. Кира, М. В. Рябцева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2008. – № 1. – С. 63–65.
35. Колесникова, Л. В. Влияние модификации гормонального и липидного статуса на формирование наружного генитального эндометриоза [Текст] / Л. В. Колесникова, Н. В. Ермолова, В. А. Линде и др. // Журнал акушерства и женских болезней. – Спец. Выпуск. – 2011. – С. 47–48.
36. Кондратьева, П. Г. Роль ангиогенных и провоспалительных факторов в развитии наружного генитального эндометриоза [Текст]: дис. ...канд. мед. наук: 14.01.01 / Кондратьева Полина Георгиевна. – Санкт-Петербург, 2010. – 121 с.
37. Кондратьева, П. Г. Участие факторов ангиогенеза в развитии наружного генитального эндометриоза [Текст] / П. Г. Кондратьева, Д. И. Соколов, А. В.

Колобов, И. М. Кветной, М. И. Ярмолинская и др. // журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – Том LVI, Выпуск 3. – С. 70–74.

38. Корсак, В. С. Эндометриоз и ВРТ (Обзор литературы) [Текст] / В. С. Корсак, О. Е. Васильева, Э. В. Исакова // Проблемы репродукции. – 2006. – № 3. – С. 41–46.

39. Краснопольский, В. И. Оперативная гинекология [Текст] / В. И. Краснопольский, С. Н. Буянова, Н. А. Щукина, А. А. Попов. – М.: МЕДпресс-информ. – 2013. – 320 с.

40. Кулаков, В. И. Руководство по охране репродуктивного здоровья [Текст] / В. И. Кулаков, В. Н. Серов, Л. В. Адамян. – М.: Триада-Х, 2001. – 568 с.

41. Кулаков, В. И. Диагностическая и хирургическая лапароскопия в гинекологии [Текст] / В. И. Кулаков, Л. В. Адамян, С. И. Киселев // Эндоскопия в диагностике и лечении патологии матки: Международный конгресс с курсом эндоскопии. – М., 1997. – С. 15–37.

42. Ланг, Т. А. Как описывать статистику в медицине [Текст] / Т. А. Ланг, М. Сесик // Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. – Практическая медицина. – 2011. – 480 с.

43. Линде, В. А. Эндометриозы [Текст] / В. А. Линде, Н. А. Татарова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 192 с.

44. Линде, В. А. Еще раз о патогенезе наружного генитального эндометриоза [Текст] / В. А. Линде, Л. В. Колесникова, Н. В. Ермолова, А. В. Ширинг // Проблемы репродукции. – 2012. – № 4. – С. 51–54.

45. Линде, В. А. Иммунологические аспекты генитального эндометриоза (обзор литературы) [Текст] / В. А. Линде, Н. А. Татарова, О. И. Гришанина // Проблемы репродукции. – 2008. – № 4. – С. 74–78.

46. Линде, В. А. Эпидемиологические аспекты генитального эндометриоза (обзор литературы) [Текст] / В. А. Линде, Н. А. Татарова, Н. Е. Лебедева, О. И. Гришанина // Проблемы репродукции. – 2008. – № 3. – С. 68–72.

47. Линде, В. А. Хронические тазовые боли у женщин [Текст] / В. А. Линде, А. Н. Рымашевский, М. И. Коган. – СПб.: Гиппократ, 2012. – 240 с.

48. Малышкина, А. И. Особенности системных реакций врожденного иммунитета у женщин с бесплодием при "малых" формах наружного генитального эндометриоза [Текст] / А. И. Малышкина, А. К. Красильникова, С. В. Романова // Рос. иммун. журнал. – 2012. – Том 2 (14), № 2 (1). – С. 84–85.

49. Марченко, Л. А. Современный взгляд на отдельные аспекты патогенеза эндометриоза (обзор литературы) [Текст] / Л. А. Марченко, Л. М. Ильина // Проблемы репродукции. – 2011. – С. 20–25.

50. Минкевич, Н. И. PEDF-нейроингибиторный серпин с нейропротекторной и антиангиогенной активностями [Текст] / Н. И. Минкевич, В. М. Липкин, И. А. Костанян // Acta Naturae. – 2010. Том 2, № 3(6). – С. 74–84.

51. Михнина, Е. А. Гормональные и иммунологические нарушения в формировании патологии эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом [Текст] / Е. А. Михнина, Н. И. Давыдова, Н. М. Калинина, В. Н. Эллиниди // Журнал акушерства и женских болезней. – 2006. – Том LV, Выпуск 4. – С. 87–100.

52. Новиков, В. В. Растворимые дифференцировочные антигены [Текст] / В. В. Новиков // Материалы Европейской школы онкологов. – М., 1999. – С. 10–14.

53. Обушева, М. Н. Растворимый Fas-антиген в сыворотке крови больных раком и доброкачественными новообразованиями яичников и его клиническое значение [Текст]: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.14 / Обушева Мария Нармановна. – Москва, 1999. – 25 с.

54. Павлов, Р. В. Пролиферативная активность эпителия, особенности васкуляризации и лейкоцитарной инфильтрации очагов перитонеального эндометриоза [Текст] / Р. В. Павлов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – Том LVI, Выпуск 3. – С. 65–68.

55. Пашков, В. М. Современные представления об этиологии и патогенезе генитального эндометриоза [Текст] / В. М. Пашков, В. А. Лебедев // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2007. – № 3. – С. 52–61.

56. Перминова, С. Г. Гипотиреоз и нарушение репродуктивной функции женщины [Текст] / С. Г. Перминова // Гинекология. – 2006. – Том 6, № 1. – С. 20–31.

57. Поленок, Е. Г. Тироксинсвязывающие белки: характеристика и современные методы хроматографического выделения и очистки (обзор) [Текст] / Е. Г. Поленок, П. В. Кузнецов, С. Ф. Зинчук // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – № 7. – С. 3–13.

58. Рыжов, С. В. Молекулярные механизмы апоптотических процессов [Текст] / С. В. Рыжов, В. В. Новиков // Российский биотерапевтический журнал. – 2002. – Том 1, № 3. – С. 27–33.

59. Савицкий, Г. А. Перитонеальный эндометриоз и бесплодие (клинико-морфологические исследования) [Текст] / Г. А. Савицкий, С. М. Горбушин. – СПб.: «ЭЛБИ-СПб», 2002. – 170 с.

60. Сарвилина, И. В. Междисциплинарные исследования в медицине [Текст] / И. В. Сарвилина, В. Н. Каркищенко, Ю. В. Горшкова. – М.: Техносфера, 2007. – 368 с.

61. Свиридов, О. В. Белки, связывающие тиреоидные гормоны и их физиологическая роль [Текст] / О. В. Свиридов // Проблемы эндокринологии. – 1994. – № 6. – С. 57–63.

62. Сельков, С. А. Системные и локальные уровни регуляции иммунопатогенетических процессов у пациенток с наружным генитальным эндометриозом [Текст] / С. А. Сельков, М. И. Ярмолинская, О. В. Павлов // журнал акушерства и женских болезней. – 2005. – Том. LIV, № 1. – С. 20–28.

63. Соколов, Д. И. Нарушение баланса цитокинов при наружном генитальном эндометриозе [Текст] / Д. И. Соколов, О. В. Павлов, Н. Г. Солодовникова, С. А. Сельков // Russian Journal of immunology. – 2005. – Vol. 9, Suppl. 2. – P. 73–78.

64. Соколов, Д. И. Исследование цитокинового профиля и ангиогенного потенциала перитонеальной жидкости больных с наружным генитальным эндометриозом [Текст] / Д. И. Соколов, Н. Г. Солодовникова, О. В. Павлов //

Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Том. 140, № 11. – С. 552–555.

65. Стрижаков, А. Н. Патогенез, клиника и терапия генитального эндометриоза [Текст]: автореф. дис. ...докт. мед. наук: 14.00.14 / Стрижаков Александр Николаевич. – Москва, 1977. – 32 с.

66. Сулейманова, З. А. Современные аспекты этиологии и патогенеза эндометриозных образований яичников [Текст] / З. А. Сулейманова, М. М. Умаханова // Актуальные вопросы практической медицины: сборник научных трудов. – М.: РГМУ, 2000. – С. 283–293.

67. Сучков, С. В. Протеомика как фундаментальный инструмент доклинического скрининга, верификации анализов и оценки применяемой терапии [Текст] / С. В. Сучков, Д. А. Гнатенко, Д. С. Костюшев и др. // Вестн. РАМН. – 2013. – № 1. – С. 65–71.

68. Фильченков, А. А. Участие системы Fas/FasL в регуляции гомеостаза и функционировании клеток иммунной системы [Текст] / А. А. Фильченков, Ю. М. Степанов, В. М. Липкин, Н. Е. Кушлинский // Аллергология и иммунология. – 2002. – № 1. – С. 24–35.

69. Цвелев, Ю. В. Современная диагностика и терапия эндометриозной болезни: учебно-методическое пособие [Текст] / Ю. В. Цвелев, В. Г. Абашин. – СПб., 2007. – 63 с.

70. Чернуха, Г. Е. Эндометриоз и хроническая тазовая боль: причины и последствия [Текст] / Г. Е. Чернуха // Проблемы репродукции. – 2011. – №5. – С. 83–89.

71. Шестакова, И. Г. «Эндометриоз: головоломка репродуктивного здоровья» [Текст] / И. Г. Шестакова, Т. А. Добрецова // Status praesens. – 2014. – № 5 (22). – С. 37–45.

72. Ярилин, А. А. Апоптоз, его роль в патологии, значимость его оценки при клинико-иммунологическом обследовании больных [Текст] / А. А. Ярилин, М. Ф. Никонова, А. А. Ярилина и др. // Медицинская иммунология. – 2000. – Том 2. – С. 7–16.

73. Ярмолинская, М. И. Цитокиновый профиль перитонеальной жидкости и периферической крови больных с наружным генитальным эндометриозом [Текст] / М. И. Ярмолинская // Журнал акушерства и женских болезней. – 2008. – Том LVII, Выпуск 3. – С. 30–34.

74. Abbas, S. Prevalence and incidence of diagnosed endometriosis and risk of endometriosis in patients with endometriosis-related symptoms: findings from a statutory health insurance-based cohort in Germany [Text] / S. Abbas, P. Ihle, I. Koster // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2011. – Vol. 2. – P. 56–61.

75. Acien, P. Endometriosis: a disease that remains enigmatic [Text] / P. Acien, I. Velasco // Obstet. Gynec. – 2013. – Vol. 24. – P. 21–49.

76. Agarwal, N. Endometriosis - morphology, clinical presentations and molecular pathology [Text] / N. Agarwal, A. Subramanian // J. Lab. Physicians. – 2010. – Vol. 2, N 1. – P. 1–9.

77. Agic, A. Apoptosis in endometriosis [Text] / A. Agic, S. Djalali, K. Diedrich, D. Hornung // Gynecol. Obstet. Invest. – 2009. – Vol. 68, N 4. – P. 217–223.

78. American Society for Reproductive Medicine. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996 [Text] // Fertil. Steril. – 1997. – Vol. 67 – P. 817–821.

79. Ametzazurra, A. Endometrial fluid is a specific and non-invasive biological sample for protein biomarker identification in endometriosis [Text] / A. Ametzazurra, R. Matorras, J. A. Garcia-Velasco, B. Prieto, L. Simon, A. Martinez, D. Nagore // Human Reproduction. – 2009. – Vol. 24. – P. 954–965.

80. Anderson, N. L. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects [Text] / N. L. Anderson, N. G. Anderson // Mol. Cell Proteomics. – 2002. – Vol. 11. – P. 845–867.

81. Arici, A. Interleikin-8 induces proliferation of endometrial stromal cells: a potential autocrine growth factor [Text] / A. Arici, E. Seli, H. B. Zeyneloglu et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1998. – Vol. 83. – Iss. 4. – P.1201–1205.

82. Aznaurova, Y. B. Molecular aspects of development and regulation of endometriosis [Text] / Y. B. Aznaurova, M. B. Zhumataev, T. K. Roberts, A. M. Aliper, A. A. Zhavoronkov // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 12. – P.50.

83. Badawy, S. Z. Cellular components in peritoneal fluid in infertile patients with and without endometriosis [Text] / S. Z. Badawy, V. Cuenca, L. Marshall, R. Munchback, A. C. Rinas, D. A. Coble // *Fertil. Steril.* – 1984. – Vol. 42, N 5. – P. 704–708.

84. Barbosa, E. B. Proteomics: methodologies and applications to the study of human diseases [Text] / E. B. Barbosa, A. Vidotto, G. M. Polachini et al. // *Rev. Assoc. Med. Bras.* – 2012. – Vol. 58, N 3. – P.366–375.

85. Becker, C. M. Angiogenesis and antiangiogenic therapy in endometriosis [Text] / C.M. Becker, R. J. D'Amato // *Micrivasc Res.* – 2007. – Vol. 74. – P. 121–30.

86. Bedaiwy, M. A. Peritoneal fluid environment in endometriosis [Text] / M. A. Bedaiwy, T. Falcone // *Minerva Ginecologica.* – 2003. – Vol. 55. – P. 333–345.

87. Bedaiwy, M. A. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial [Text] / M. A. Bedaiwy, T. Falcone, R. K. Sharma, J. M. Goldberg, M. Attaran, D.R. Nelson, A. Agarwal // *Hum. Reprod.* – 2002. Vol. 17. – P. 426–431.

88. Begum, T. Aetiology and pathogenesis of endometriosis - a review [Text] / T. Begum, S. R. Chowdhury // *Mymensingh Med. J.* – 2013. – Vol. 22, N 1. – P. 218–221.

89. Beliard, A. Reduction of apoptosis and proliferation in endometriosis [Text] / A. Beliard, A. Noel, J. M. Foidart // *Fertil. Steril.* – 2004. – Vol. 82, N 1. – P. 80–85.

90. Benaglia, L. In vitro fertilization outcome in women with unoperated bilateral endometriomas [Text] / L. Benaglia, A. Bermejo, E. Somigliana, S. Faulisi, G. Ragni, L. Fedele, J. A. Garcia-Velasco // *Fertil.Steril.* – 2013. – Vol. 99, Iss. 6 – P. 1714–1719.

91. Berkkanoglu, M. Immunology and endometriosis [Text] / M. Berkkanoglu, A. Arici // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2003. – Vol. 50, N 1. – P. 48–59.

92. Berkley, K. J. The pains of endometriosis [Text] / K. J. Berkley, R. E. Rapkin // *Science.* – 2005. – Vol. 308. – P. 1587–1589.

93. Bischof, P. Investigations on the cell type responsible for the endometrial secretion of complement component 3 (C3) [Text] / P. Bischof, D. Planas-Basset, A. Meisser, A. Campana // *Hum. Reprod.* – 1994. – Vol. 9. – P. 1652–1659.

94. Blatteis, C. M. Signaling the brain in systemic inflammation: the role of complement [Text] / C. M. Blatteis, S. Li, Z. Li, V. Perlik, C. Feleder // *Front Biosci.* – 2004. – Vol. 9. – P. 915–931.

95. Bourlev, V. Signs of reduced angiogenic activity after surgical removal of deeply infiltrating endometriosis [Text] / V. Bourlev, N. Iljasova, M. Olovsson, L. Adamyan, A. Larsson // *Fertility and Sterility.* – 2010. – Vol. 94, N 1. – P. 52–57.

96. Bouwman, L. H. Mannose-binding lection: clinical implications for infection, transplantation, and autoimmunity [Text] / L. H. Bouwman, B.O. Roep, A. Roos // *Hum. Immunol.* – 2006. – Vol. 67. – P. 247–256.

97. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [Text] / M. M. Bradford // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

98. Brenta, G. Variations of sex hormone-binding globulin in thyroid dysfunction [Text] / G. Brenta, M. Schnitman, M. Gurfinkiel et al. // *Thyroid.* – 1999. – Vol. 9, N 3. – P. 273–277.

99. Broadhead, M. L. The applied biochemistry of PEDF and implications for tissue homeostasis [Text] / M. L. Broadhead, S. P. Becerra, P. F. Choong, C. R. Dass // *Growth Factors.* – 2010. – Vol. 28, N 4. – P. 280–285.

100. Brosens, I. Pathophysiology proposed as the basis for modern management of the ovarian endometrioma [Text] / I. Brosens, S. Gordts, P. Puttemans, G. Benagiano // *Reprod. Biomed. Online.* – 2014. Vol. 28, N 2. – P. 232–238.

101. Bruner-Tran, K. L. Down-regulation of endometrial matrix metalloproteinase-3 and -7 expression in vitro and therapeutic regression of experimental endometriosis in vivo by a novel nonsteroidal progesterone receptor agonist, Tanaproget [Text] / K. L. Bruner-Tran, Z. Zhang, E. Eisenberg, R. C. Winneker, K. G. Osteen // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol. 91, N 4. – P. 1554–1560.

102. Bulun, S. E. Estrogen biosynthesis in endometriosis: molecular basis and clinical relevance [Text] / S. E. Bulun, K. M. Zeitoun, K. Takayama, H. Sasano // *J. Mol. Endocrinol.* – 2000. – Vol. 25. – P. 35-42.

103. Burney, R. O. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis [Text] / R. O. Burney, L. C. Giudice // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98, N 3. – P. 511–519.

104. Cakmak, H. Molecular Mechanisms of Treatment Resistance in Endometriosis: The role of Progesterone – HOX Gene Interactions [Text] / H. S. Taylor, E. B. Serdar // *Semin. Reprod. Med.* – 2010. – Vol. 28, N 1. – P. 69–74.

105. Chapron, C. Results and role of rectal endoscopic ultrasonography for patients with deep pelvic endometriosis [Text] / C. Chapron, I. Dumontier, B. Dousset, X. Fritel, D. Tardif, G. Roseau, S. Chaussade, D. Couturier, J. B. Dubuisson // *Hum. Reprod.* – 1998. – Vol. 13, N 8. – P. 2266–2270.

106. Chapron, C. Management of deep endometriosis [Text] / C. Chapron, J. B. Dubuisson // *Annals of The New York Academy of Sciences.* – 2001. – Vol. 943. – P. 276–280.

107. Chapron, C. Accuracy of rectal endoscopic ultrasonography and magnetic resonance imaging in the diagnosis of rectal involvement for patients presenting with deeply infiltrating endometriosis [Text] / C. Chapron, M. Vieira, N. Chopin, C. Balleyguier, H. Barakat, A. Fauconnier, H. Foulot, B. Dousset // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2004. – Vol. 24. – P. 175–179.

108. Chapron, C. Oral contraceptives and endometriosis: the past use of oral contraceptives for treating severe primary dysmenorrhea is associated with endometriosis, especially deep infiltrating endometriosis [Text] / C. Chapron, C. Souza, B. Borghese et al. // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26, N 8. – P.2028–2035.

109. Cheung, L.W. Pigment epithelium-derived factor is estrogen sensitive and inhibits the growth of human ovarian cancer and ovarian surface epithelial cells [Text] / L. W. Cheung, S. C. Au, A. N. Cheung, H. Y. Ngan, J. Tombran-Tink, N. Auersperg, A. S. Wong // *Endocrinology.* – 2006. – Vol. 147, N 9. – P.4179–4191.

110. Cho, S. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its soluble receptor-1 in endometriosis [Text] / S. Cho, Y. S. Choi, Y. E. Jeon, K. J. Im, Y.

M. Choi, S. Y. Yim, H. Kim, S. K. Seo, B. S. Lee // *Microvasc Res.* – 2012. – Vol. 83, N 2. – P. 237–242.

111. Chuderland, D. Role of pigment epithelium-derived factor in the reproductive system [Text] / D. Chuderland, I. Ben-Ami, H. Bar-Joseph, R. Shalgi // *Reproduction.* – 2014. – Vol. 148, N 4. – R. 53-61.

112. Chung, H. W. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 mRNA expression in ectopic and eutopic endometrium in women with endometriosis: a rationale for endometriotic invasiveness [Text] / H. W. Chung, Y. Wen, N. Lee et al. // *Fertil. Steril.* – 2001. – Vol. 75, N 1. – P. 152–159.

113. Cicinelli, E. Peritoneal fluid concentrations of progesterone in women are higher close to the corpus luteum compared with elsewhere in the abdominal cavity [Text] / E. Cicinelli, N. Einer-Jenseh, R. H. Hunter et al. // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 92. – P. 306–310.

114. Clauss, M. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family [Text] / M. Clauss // *Semin. Tromb. Hemost.* – 2000. – Vol. 26. – P. 561–570.

115. Coccia, M. E. Does controlled ovarian hyperstimulation in women with a history of endometriosis influence recurrence rate [Text] / M. E. Coccia, F. Rizzello, S. Gianfranco // *J. Womens Helth (Larchmt).* – 2010. – Vol. 19, N 11. – P. 2063–2069.

116. Cramer, D. W. The epidemiology of endometriosis [Text] / D. W. Cramer, S. A. Missmer // *Acad. Sci.* – 2002. – Vol. 955. – P. 11–22.

117. Surrey, E. S. Endometriosis and assisted reproductive technologies: maximizing outcomes [Text] / E. S. Surrey // *Semin. Reprod. Med.* – 2013. – Vol. 31, N 2. – P. 154–163.

118. Dawson, D. W. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis [Text] / D. W. Dawson, O. V. Volpert, P. Gillis // *Science.* – 1999. – Vol. 285, N 5425. – P. 245–248.

119. D'Cruz, O. J. Evaluation of endometrial tissue specific complement activation in women with endometriosis [Text] / O. J. D'Cruz, R. A. Wild // *Fertil. Steril.* – 1992. – Vol. 57. – P. 787–795.

120. Deng, X. The structure of dimeric apolipoprotein A-IV and its mechanism of self-association [Text] / X. Deng, J. Morris, J. Dressmen, M. R. Tubb, P. Tso, W. G. Jerome, W. S. Davidson, T. B. Thompson // *Structure*. – 2012. – Vol. 20, N 5. – P. 767–779.
121. Dmowski, W. P. Immunology of endometriosis [Text] / W. P. Dmowski, D. P. Braun // *Research Clin. Obstet. and Gynecol.* – 2004. – Vol. 18, N 2. – P. 245–263.
122. Donnez, J. Peritoneal fluid volume and 17-estradiol and progesterone concentrations in ovulatory, anovulatory and postmenopausal women [Text] / J. Donnez, S. Langerock, K. Thomas // *Obstet. Gynecol.* – 1982. – Vol. 59, N 6. – P. 687–692.
123. Elmore, S. Apoptosis: a review of programmed cell death [Text] / S. Elmore // *Toxicol. Pathol.* – 2007. – Vol. 35, N 4. – P. 495–516.
124. Eskenazi, B. Epidemiology of endometriosis [Text] / B. Eskenazi, E. L. Warner // *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* – 1997. – Vol. 21. – P. 235–258.
125. Dunselman, G. A. ESHRE guideline: management of women with endometriosis [Text] / G. A. Dunselman, N. Vermeulen, C. Becker, C. Calhaz-Jorge, T. D'Hooghe, B. De Bie, O. Heikinheimo, A. W. Horne, L. Kiesel, A. Nap, A. Prentice, E. Saridogan, D. Soriano, W. Nelen // *Hum. Reprod.* – 2014. – Vol. 29, N 3. – P. 400–412.
126. Fedele, L. Use of levonorgestrel-releasing intrauterine device in the treatment of rectovaginal endometriosis [Text] / L. Fedele, S. Bianchi, G. Zanconato, A. Portuese, R. Raffaelli // *Fertil. Steril.* – 2001. – Vol. 75. – P. 485–488.
127. Ferrero, S. Proteomic analysis of peritoneal fluid in fertile and infertile women with endometriosis [Text] / S. Ferrero, D. J. Gillott, V. Remorgida et al. // *J. Reprod. Med.* – 2009. – Vol. 54, N 1. – P. 32–40.
128. Filleur, S. Characterization of PEDF: a multi-functional serpin family protein [Text] / S. Filleur, T. Nelius, W. de Riese, R. C. Kennedy // *J. Cell Biochem.* – 2009. – Vol. 106, N 5. – P. 769–775.
129. Folkman, J. Incipient Angiogenesis [Text] / J. Folkman // *J. Nat. Cancer Inst.* – 2002. – Vol. 92, N 2. – P. 94–95.

130. Fuldeore, M. Surgical procedures and their cost estimates among women with newly diagnosed endometriosis: a US database study [Text] / M. Fuldeore, K. Chwalisz, S. Marx et. al. // *J. Med. Econ.* – 2011. – Vol. 14. – P. 115–123.

131. Guo, S.W. Epigenetics of endometriosis [Text] / S. W. Guo // *Mol. Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 15, N 10. – P. 587–607.

132. Geva, E. Undiagnosed systemic lupus erythematosus in a cohort of infertile women [Text] / S. W. Guo, L. Lerner-Geva, M. Burke, N. Vardinon, J. B. Lessing, A. Amit // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2004. – Vol. 51. – P. 336–340.

133. Garcia-Velasco, J. A. Management of endometriomas in women requiring IVF: to touch or not to touch [Text] / J. A. Garcia-Velasco, E. Somigliana // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24. – P. 496–501.

134. Garcia-Velasco, J. A. Apoptosis and the pathogenesis of endometriosis [Text] / J. A. Garcia-Velasco, A. Arici // *Semin. Reprod. Med.* – 2003. – Vol. 21. – P. 165–172.

135. Garcia, L. Adenomyosis: review of the literature [Text] / L. Garcia, K. Isaacson // *J. Minim. Invasive Gynecol.* – 2011. – Vol. 18, N 4. – P. 428–437.

136. Gajbhiye, R. Identification and evaluation of new serum markers for early diagnosis of endometriosis [Text] / R. Gajbhiye, A. Sonawani, S. Khan, A. Suryawanshi, S. Kadam, N. Warty, V. Raut, V. Khole // *Hum. Reprod.* – 2012. – N 2 (26). – P. 35–45.

137. Gazvani, R. Peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis [Text] / R. Gazvani, A. Templeton // *Reproduction.* – 2002. – Vol. 123, N 2. – P. 217–226.

138. Gebel, H. M. Spontaneous apoptosis of endometrial tissue is impaired in women with endometriosis [Text] / H. M. Gebel, D. P. Braun, A. Tambur et al. // *Fertil. Steril.* – 1998. – Vol. 69, N 6. – P. 1042–1047.

139. Gettins, P. G. Pigment epithelium-derived factor (PEDF), a serpin with potent anti-angiogenic and neurite outgrowth-promoting properties [Text] / P. G. Gettins, M. Simonovic, K. Volz // *Biol. Chem.* – 2002. Vol. 383, N 11. – P. 1677–1682.

140. Ghatage, D. D. Apoptosis: Molecular mechanism [Text] / D. D. Ghatage, S. R. Gosavi, S. M. Ganvir, V. K. Hazarey // *J. Orofac. Sci.* – 2012. – Vol. 4. – P. 103–107.
141. Giudice, L. C. Endometriosis [Text] / L. C. Giudice // *N. Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 362. – P. 2389–2398.
142. Görg, A. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis with immobilized pH gradients in the first dimension (IPG-Dalt): the state of the art and the controversy of vertical versus horizontal systems [Text] / A. Görg, G. Boguth, C. Obermaier et al. // *Electrophoresis.* – 1995. – Vol. 16. – P. 1079–1086.
143. Groothuis, P.G. Vascular development in endometriosis [Text] / P. G. Groothuis, A. W. Nap, E. Winterhager, R. Grummer // *Angiogenesis.* – 2005. – Vol. 8. – P. 147–156.
144. Gupta, S. Impact of ovarian endometrioma on assisted reproduction outcomes [Text] / S. Gupta, A. Agarwal, R. Agarwal, J. R. Loret de Mola // *Reprod. Biomed. Online.* – 2006. – Vol. 13. – P. 349–360.
145. Hammond, G. L. Diverse roles for sex hormone-binding globulin in reproduction [Text] / G. L. Hammond // *Biol. Reprod.* – 2001. – Vol. 85, N 3. – P. 431–441.
146. Hachisuga, T. Histopathological analysis of laparoscopically treated ovarian endometriotic cysts with special reference to loss of follicles [Text] / T. Hachisuga, T. Kawarabayashi // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 432–435.
147. Harada, T. Apoptosis in human endometrium and endometriosis [Text] / T. Harada, A. Kaponis, T. Iwabe et al. // *Hum. Reprod.* – 2004. – Vol. 10, N 1. – P. 29–38.
148. Hasty, L.A. Hormonal regulation of complement components and receptors throughout the menstrual cycle [Text] / L. A. Hasty, J. D. Lambris, B. A. Lessey, K. Pruksananonda, C. R. Lyttle // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1994. – Vol. 170. – P. 168–175.
149. Hey-Cunningham, A. J. Angiogenesis, lymphangiogenesis and neurogenesis in endometriosis [Text] / A. J. Hey-Cunningham, K. M. Peters, H. B. Zevallos, M.

Berbic, R. Markham, I. S. Fraser // *Front Biosci (Elite Ed)*. – 2013. – Vol. 5. – P. 1033–1056.

150. Hill, J. A. Immunology and endometriosis [Text] / J. A. Hill // *Fertil. Steril.* – 1992. – Vol. 58, N 2. – P. 262–264.

151. Hill, J. A. Characterization of leukocyte subpopulations in the peritoneal fluid of women with endometriosis [Text] / J. A. Hill, H. M. Faris, I. Schiff, D. J. Anderson // *Fertil. Steril.* – 1988. – Vol. 50. – P. 216–222.

152. Hirsch, J. PEDF inhibits IL8 production in prostate cancer cells through PEDF receptor/phospholipase A2 and regulation of NFκB and PPARγ [Text] / J. Hirsch, C. L. Johnson, T. Nelius, R. Kennedy, W. D. Riese, S. Filleur // *Cytokine.* – 2011. – Vol. 55, N 2. – P. 202–210.

153. Horie, S. Progesterone and progestational compounds attenuate tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 production via nuclear factor kappa B inactivation in endometriotic stromal cells [Text] / S. Horie et al. // *Fertil. Steril.* – 2005. – Vol. 83, N 5. – P. 1530–1535.

154. Hull, M. L. Micro RNA in endometriosis [Text] / M. L. Hull, C. G. Print // *Endometriosis: science and practice.* – 2012. – P. 173–183.

155. Hummelshij, L. Update on endometriosis [Text] / L. Hummelshij, A. Prentice, P. Groothuis // *Women's Health.* – 2006. – Vol. 2. – P. 53–56.

156. Iborra, A. Autoimmune response in women with endometriosis [Text] / A. Iborra, J. R. Palacio, Z. Ulcova-Gallova, P. Martinez // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2000. – Vol. 44. – P. 236–241.

157. Inoue, T. Progesterone stimulates the induction of human endometrial CD56+ lymphocytes in an in vitro culture system [Text] / T. Inoue et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1996. – Vol. 81. – P. 1502–1507.

158. Isaacson, K. B. The effect of estradiol on the production and secretion of complement component 3 by the rat uterus and surgically induced endometriotic tissue [Text] / K. B. Isaacson, Q. Xu, C. R. Lyttle // *Fertil. Steril.* – 1991. – Vol. 55. – P. 395–402.

159. Isaacson, K. B. Endometrial synthesis and secretion of complement component-3 by patients with and without endometriosis [Text] / K. B. Isaacson, M. Galman, C. Coutifaris, C. R. Lyttle // *Fertil. Steril.* – 1990 – Vol. 53. – P. 836–841.

160. Jacobson, T. Z. Laparoscopic surgery for sub fertility associated with endometriosis [Text] / T. Z. Jacobson, J. M. Duffy, D. Barlow, C. Farquhar, P. R. Koninckx, D. Olive // *Cochrane database Syst Rev.* – 2010. DOI: 10.1002/14651858.CD001398.pub2.

161. Kabut, J. Levels of complement components iC3b, C3c, C4, and SC5b-9 in peritoneal fluid and serum of infertile women with endometriosis [Text] / J. Kabut, Z. Kondera-Anasz, J. Sikora, A. Mielczarek-Palacz // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 88, N 5. – P. 1298–1303.

162. Kahn, S. M. Sex hormone-binding globulin is synthesized in target cells [Text] / S. M. Kahn, D. J. Hryb, A. M. Nakhla et al. // *J. Endocrinol.* – 2002. – Vol. 175, N 1. – P. 113–120.

163. Kalsheker, N. A. Alpha1-Antitrypsin deficiency: best clinical practice [Text] / N. A. Kalsheker // *J. Clin. Pathol.* – 2009. – Vol. 62, № 10. – P. 865–869.

164. Kamer-Bartosinska, A. Innate immunity participation in the pathogenesis of endometriosis [Text] / A. Kamer-Bartosinska, K. Szylo, H. Tchorzewski, J. Lewy // *Ginekol. Pol.* – 2003. – Vol. 74. – P. 959–967.

165. Kayisli, U. A. Uterine chemocines in reproductive physiology and pathology [Text] / U. A. Kayisli, N. G. Mahutte, A. Arici // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2002. – Vol. 47, N 4. – P. 213–221.

166. Kennedy, S. H. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis [Text] / S. H. Kennedy, A. Bergqvist, C. Chapron, T. D'Hooghe, G. Dunselman, R. Greb et al. // *Hum. Reprod.* – 2005. – Vol. 20. – P. 2698–704.

167. Kianpour, M. Serum and peritoneal fluid levels of vascular endothelial growth factor in women with endometriosis [Text] / M. Kianpour, M. Nematbakhsh, S. M. Ahmadi, M. Jafarzadeh, M. Hajjarian, Z. Pezeshki, T. Safari, F. Eshraghi-Jazi // *Int. J. Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 7, N 2. – P. 96–99.

168. Kitawaki, J. Genetic contribution of the interleukin-10 promoter polymorphism in endometriosis susceptibility [Text] / J. Kitawaki, H. Obayashi, M. Ohta et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2002. – Vol. 47. – P. 12–18.

169. Knox, P. G. Inhibition of metalloproteinase cleavage enhances the cytotoxicity of Fas ligand [Text] / P.G. Knox, A. E. Milner, N. K. Green et al. // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 170. – P. 677–685.

170. Kohan, A. B. Apolipoprotein A-IV regulates chylomicron metabolism-mechanism and function [Text] / A. B. Kohan, F. Wang, X. Li, S. Bradshaw, Q. Yang, J. L. Caldwell, T. M. Bullock, P. Tso // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2012. – Vol. 302, N 6. – P. G628–636.

171. Kolialexi, A. Mass spectrometry-based proteomics in reproductive medicine [Text] / A. Kolialexi, A. Mavrou, G. Spyrou et al. // *Mass Spectrom. Rev.* – 2008. – Vol. 27, N 6. – P. 624–634.

172. Koninckx, P. R. Pathogenesis of endometriosis: the role of peritoneal fluid [Text] / P. R. Koninckx, S. H. Kennedy, D. H. Barlow et al. // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 1999. – Vol. 47. – P. 23–33.

173. Koninckx, P. R. Principles and management of endometriosis: surgical treatment [Text] / P. R. Koninckx // *Female infertility therapy: Current practice.* – 1999. – P. 373–389.

174. Landi, S. Association of common polymorphisms in inflammatory genes interleukin (IL)6, IL8, tumor necrosis factor alpha, NFkB1, and peroxisome proliferator-activated receptor gamma with colorectal cancer [Text] / S. Landi, V. Moreno, L. Gioia-Patricola et al. // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63. – P. 3560–3566.

175. La Rosa, J. C. Intensive lipid Lowering with atirvastatin in patients with stable coronary disease [Text] / J. C. La Rosa, S. M. Grundy, D. D. Waters, C. Shear, P. Barter, J. C. Fruchari, A. M. Gotto, H. Greten, J. J. Kastelein, J. Shrpheer et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 352, N 14. – P. 1425–1435.

176. Laschke, M. W. In vitro and in vivo approaches to study angiogenesis in the pathophysiology and therapy of endometriosis [Text] / M. W. Laschke, M. D. Menger // *Hum. Reprod. Update.* – 2007. – Vol. 13. – P. 331–342.

177. Laschke, M. W. Vasculogenesis: a new piece of the endometriosis puzzle [Text] / M. W. Laschke, C. Giebels, M. D. Menger // Hum. Reprod. Update. – 2011. – Vol. 17, N 5. – P. 628–636.

178. Laschke, M. W. Combined inhibition of vascular growth factor, fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor, but not inhibition of VEGF alone, effectively suppresses angiogenesis and vessel maturation in endometriotic lesions [Text] / M. W. Laschke, A. Elitzsch, B. Vollmar et al. // Hum. Reprod. – 2006. – Vol. 21, N 1. – P. 262–268.

179. Lebovic, D. I. Immunobiology of endometriosis [Text] / D. I. Lebovic, M. D. Mueller, R. N. Taylor // Fertil. Steril. – 2001. – Vol. 75. – P.1–10.

180. Ledger, W. L. Endometriosis and infertility: an integrated approach [Text] / W. L. Ledger // Int. J. Gynecol. Obstet. – 1999. – Vol. 64, Suppl. 1. – P. S33–S40.

181. Leyland, N. Endometriosis: Diagnosis and Management [Text] / N. Leyland, R. Casper, Ph. Laberge et al. // Clinical Practice guideline. JOGC. – 2010. – Vol. 32, N 7. – P. 1–27.

182. Li, Y. Api6/AIM/Spα/CD5L overexpression in alveolar type II epithelial cells induces spontaneous lung adenocarcinoma [Text] / Y. Li, P. Qu, L. Wu, B. Li, H. Du, C. Yan // Cancer Res. – 2011. – Vol. 71, N 16. – P. 5488–5499.

183. Maneschi, F. Ovarian cortex surrounding benign neoplasms: a histologic study [Text] / F. Maneschi, L. Marasa, S. Incandela, M. Mazzaresse, E. Zupi // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1993. – Vol. 169. – P. 388–393.

184. Marchino G. L. Diagnosis of pelvic endometriosis with use of macroscopic versus histologic findings [Text] / G. L. Marchino, G. Gennarelli, R. Enria, F. Bongioanni, G. Lipari, M. Massobrio // Fertil. Steril. – 2005. – Vol. 84. – P. 12–15.

185. Matarese, G. Pathogenesis of endometriosis: natural immunity dysfunction or autoimmune disease? [Text] / G. Matarese, G. De Placido, Y. Nikas, C. Alviggi // Trends Mol. Med. – 2003. – Vol. 9. – P. 223–228.

186. May, K. E. Peripheral biomarkers of endometriosis: a systematic review [Text] / K. E. May, S. A. Conduit-Hulbert, J. Villar, S. Kirtley, S. H. Kennedy, C. M. Becker // Hum. Reprod. Update. – 2010. – Vol. 16, N 6. – P. 651–674.

187. May, K. Endometriosis and angiogenesis [Text] / K. May, C. M. Becker // *Minerva Ginecol.* – 2008. – Vol. 60, N 3. – P. 245–254.

188. Mechsner, S. Growth-associated protein 43-positive sensory nerve fibers accompanied by immature vessels are located in or near peritoneal endometriotic lesions [Text] / S. Mechsner, J. Schwarz, J. Thode, C. Loddenkemper, D. S. Salomon, A. D. Ebert // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 88. – P. 581–587.

189. Meuleman, C. High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners [Text] / C. Meuleman, B. Vandenabeele, S. Fieuws, C. Spiessens, D. Timmerman, T. D'Hooghe // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol. 92. – P. 68–74.

190. Mihalyi, A. Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers [Text] / A. Mihalyi, O. Gevaert, C. M. Kyama, P. Simsa, N. Pochet, F. De Smet, B. De Moor, C. Meuleman, J. Billen, N. Blanckaert et al. // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25 – P. 654–664.

191. Misao, R. Levels of sex hormone-binding globulin (SHBG) and corticosteroid-binding globulin (CBG) messenger ribonucleic acid (mRNAs) in ovarian endometriosis [Text] / R. Misao, M. Hori, S. Ichigo, J. Fujimoto, T. Tamaya // *Reprod. Nutr. Dev.* – 1995/ - Vol. 35, N 2. – P. 155–165.

192. Misao, R. Expression of sex hormone-binding globulin exon VII splicing variant messenger ribonucleic acid in human ovarian endometriosis [Text] / R. Misao, Y. Nakanishi, J. Fujimoto, T. Tamaya // *Fertil. Steril.* – 1998. – Vol. 69, N 2. – P. 324–328.

193. Moen, M. H. Histologic confirmation of endometriosis in different peritoneal lesions [Text] / M. H. Moen, T. B. Halvorsen // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 1992. – Vol. 71, N 5. – P. 337–342.

194. Mohamad, N. Mitochondrial apoptotic pathways [Text] / N. Mohamad, A. Gutiérrez, M. Núñez, C. Cocca, G. Martín, G. Cricco, V. Medina, E. Rivera, R. Bergoc // *Biocell.* – 2005. – Vol. 29, N 2. – P. 149–161.

195. Mol, B. W. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis [Text] / B. W. Mol, N. Bayram, J. G. Lijmer, M. A.

Wiegerinck, M. Y. Bongers, F. van der Veen, P. M. Bossuyt // *Fertil. Steril.* – 1998. – Vol. 70, N 6. – P. 1101–1108.

196. Monaco, H. L. The transthyretin-retinol-binding protein complex [Text] / H. L. Monaco // *Biochem. Biophys. Acta.* – 2000. – Vol. 1482. – P. 65–72.

197. Moore, J. A systematic review of the accuracy of ultrasound in the diagnosis of endometriosis [Text] / J. Moore, S. Copley, J. Morris, D. Lindsell, S. Golding, S. Kennedy // *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* – 2002. – Vol. 20, N 6. – P. 630–634.

198. Muzii, L. Laparoscopic excision of ovarian cysts: is the stripping technique a tissue-sparing procedure? [Text] / L. Muzii, A. Bianchi, C. Croce, N. Mancini, P. B. Panici // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 77. – P. 609–614.

199. Nabeta, M. Identification of anti-a-enolase autoantibody as a novel serum marker for endometriosis [Text] / M. Nabeta, Y. Abe, L. Kagawa, R. Haraguchi, K. Kito, N. Ueda, A. Sugita, M. Yokoyama, Y. Kusanagi, M. Ito // *Proteomics Clin. Appl.* – 2009. – Vol. 10. – P. 1201–1210.

200. Nagasawa, M. Identification of a functional peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) response element (PPRE) in the human apolipoprotein A-IV gene [Text] / M. Nagasawa, T. Hara, A. Kashino, Y. Akasaka, T. Ide, K. Murakami // *Biochem. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 78, N 5. – P. 523–530.

201. Nap, A. W. Pathogenesis of endometriosis [Text] / A. W. Nap, P. G. Groothuis, A. Y. Demir [et al.] // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 18, N 2. – P. 233–244.

202. Nasu, K. Bufalin induces apoptosis and the G0/G1 cell cycle arrest of endometriotic stromal cells: a promising agent for the treatment of endometriosis [Text] / K. Nasu, M. Nishida, T. Ueda et al. // *Mol. Hum. Reprod.* – 2005. – Vol. 11, N 11. – P. 817–823.

203. Oral, E. The peritoneal environment in endometriosis [Text] / E. Oral, D. L. Olive, A. Arici // *Hum. Reprod. Update.* – 1996. – Vol. 2, N 5. – P. 385–398.

204. Oosterlynk, D. J. Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium [Text] / D. J. Oosterlynk, F. J. Cornillie, M. Waer et al. // *Fertil. Steril.* – 1991. – Vol. 56. – P. 45–51.

205. Othman, E. E. Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis [Text] / E. E. Othman, D. Homung, H. T. Salem, E. A. Khalifa, T. H. El-Metwally, A. Al-Hendy // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2008. – Vol. 137. – P. 420-6.
206. Panidis, D. SHBG serum level in women with endometriosis before, during and after long-term danazol therapy [Text] / D. Panidis, T. Kokkinos, D. Vavilis, D. Rousso, T. Tantanassis, A. Kalogeropoulos // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 1993. – Vol. 53, N 2. – P. 121–124.
207. Papoff, G. Identification and characterization of a ligand-independent oligomerization domain in the extracellular region of the CD95 death receptor [Text] / G. Papoff, P. Hausler, A. Eramo et al. // *J. Bio. Chem.* – 1999. – Vol. 274, N 53. – P. 38241–38250.
208. Petta, C. A. Thyroid autoimmunity and dysfunction in women with endometriosis [Text] / C. A. Petta et al. // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22, N 10. – P. 2693–2697.
209. Pupo-Nogueir, A. Vascular endothelial growth factor concentrations in the serum and peritoneal fluid of women with endometriosis [Text] / A. Pupo-Nogueir, R. M. de Oliveira, C. A. Petta, S. Podgaec, J. A. Jr. Dias, M. S. Abrao // *Int. L. Gynaecol. Obstet.* – 2007. – Vol. 99. – P. 33–37.
210. Rak, J. Oncogenes as inducers of tumor angiogenesis [Text] / J. Rak, J. Filmus, G. Finkenzeller et al. // *Cancer Met. Rev.* – 1995. – Vol. 14. – P. 263–277.
211. Ramey, J. W. Peritoneal fluid: its relevance to the development of endometriosis [Text] / J. W. Ramey, D. F. Archer // *Fertil. Steril.* – 1993. – Vol. 60, N 1. – P. 1–14.
212. Rahmioglu, N. Insights into Assessing the Genetics of Endometriosis [Text] / N. Rahmioglu, S. A. Missmer, G. W. Montgomery, K. T. Zondervan // *Currant. Obstetr. Gynecol. Rep.* – 2012. – Vol. 1, N 3. – P. 124–130.
213. Reed, J. C. Mechanisms of apoptosis [Text] / J. C. Reed // *Am. J. Pathol.* – 2000. – Vol. 157, N 5. – P. 1415–1430.

214. Reich, H. An update on laparoscopic hysterectomy and pelvic floor reconstruction [Text] / H. Reich, C. Y. Liu, A. Vidali // *Surg. Technol. Int.* – 2000. – N IX. – P. 173–188.

215. Reis, E. S. Clinical aspects and molecular basis of primary deficiencies of complement component C3 and its regulatory proteins factor I and factor H [Text] / E. S. Reis, D. A. Falcao, L. Isaac // *Scand. J. Immunol.* – 2006. – Vol. 63. – P. 155–168.

216. Reis, E. S. Endometriosis: hormone regulation and clinical consequences of chemotaxis and apoptosis [Text] / E. S. Reis, F. Petraglia, R. N. Taylor // *Hum. Reprod. Update.* – 2013. – Vol. 19, N 4. – P. 406–418.

217. Richardson, S. J. Cell and molecular biology of transthyretin and thyroid hormones [Text] / S. J. Richardson // *Int. Rev. Cytol.* – 2007. – Vol. 258. – P. 137–193.

218. Robbins, J. Thyroxine transport and the free hormone hypothesis [Text] / J. Robbins // *Endocrinology.* – 1992. – Vol. 131, N 2. – P. 546–547.

219. Rus, H. The role of the complement system in innate immunity [Text] / H. Rus, C. Cudrici, F. Niculescu // *Immunol. Res.* – 2005. – Vol. 33. – P. 103–112.

220. Sampson, J. A. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into peritoneal cavity [Text] / J. A. Sampson // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1927. – Vol. 14. – P. 442–469.

221. Sarrias, M. R. A role for human Sp alpha as a pattern recognition receptor [Text] / M. R. Sarrias, S. Roselló, F. Sánchez-Barbero et al. // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, N 42. – P. 35391–35398.

222. Sayegh, R. A. Localization of the expression of complement component 3 in the human endometrium by in situ hybridization [Text] / R. A. Sayegh, X. J. Tao, J. T. Awwad, K. B. Isaacson // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1996. – Vol. 81. – P. 1641–1649.

223. Seli, E. Endometriosis: interaction of immune and endocrine system [Text] / E. Seli, A. Arici // *Semin. Reprod. Med.* – 2003. – Vol. 21. – P. 135–144.

224. Seli, E. Pathogenesis of endometriosis [Text] / E. Seli, M. Berkkanoglu, A. Arici // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* – 2003. – Vol. 30, N 1. – P. 41–61.

225. Shevchenko, A. Mass spectrometric sequencing of proteins from silver stained polyacrylamide gels [Text] / A. Shevchenko, M. Wilm, O. Vorm, M. Mann // *Anal. Chem.* – 1996. – Vol. 68. – P. 850–858.

226. Shu-Huei, K. Oxidative Damage and Mitochondrial DNA Mutations with Endometriosis [Text] / K. Shu-Huei, H. Hsieng-Chiang, H. Rong-Hong, C. Su-Chee, Tsai Ming-Chuan, T. Chii-Reuy // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2005. – Vol. 1042. – P. 186–194.

227. Simoens, S. Endometriosis: cost estimates and methodological respective [Text] / S. Simoens, L. Hummelshoj, T. D'Hooghe // *Hum. Reprod. Update.* – 2007. – Vol. 13. – P. 395–404.

228. Sinaii, N. Differences in characteristics among 1,000 women with endometriosis based on extent of disease [Text] / N. Sinaii, K. Plumb, L. Cotton, A. Lambert, S. Kennedy, K. Zondervan et al. // *Fertil Steril.* – 2008. – Vol. 89. – P. 538–45.

229. Slack, A. Urological and colorectal complication following surgery for rectovaginal endometriosis [Text] / A. Slack, T. Child, L. Lindsey, S. Kennedy, C. Cunnigham, N. Mortensen et al. // *BJOG.* – 2007. – Vol. 114. – P. 1278–1282.

230. Spaulding, H. L. Apo A-IV: an update on regulation and physiologic functions [Text] / H. L. Spaulding, E. Delvin, M. Lambert, E. Seidman, E. Levy // *Biochem. Biophys. Acta.* – 2003. – Vol. 1631, N 2. – P. 177–187.

231. Songye, X. Clinical significance of serum levels of soluble Fas, soluble Fas ligand and soluble TNFR-II in patients with chronic congestive heart failure [Text] / X. Songye, D. Xing, C. Jiting et al. // *Abstract.* – 2004. – P. 1680–6115.

232. Sturlese, E. Dysregulation of the Fas/FasL system in mononuclear cells recovered from peritoneal fluid of women with endometriosis [Text] / E. Sturlese, F. M. Salmeri, G. Retto, A. Pizzo, R. De Dominici, F. V. Arditia, I. Borrielli, N. Licata, A. S. Laganà, V. Sofo // *J. Reprod. Immunol.* – 2011. – Vol. 92 (1-2). – P. 74–81.

233. Tanaka, M. Expression of the functional soluble form of human Fas ligand in activated lymphocytes [Text] / M. Tanaka, T. Suda, T. Takahashi et al. // *EMBO J.* – 1995. – Vol. 14. – P. 1129.

234. Tang, Y. Ovarian damage after laparoscopic endometrioma excision might be related to the size of cyst [Text] / Y. Tang, S. L. Chen, X. Chen, Y. X. He, D. S. Ye, W. Guo, H. Y. Zheng, X. H. Yang // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 100, N 2. – P. 464–469.

235. Taniguchi, F. Apoptosis and endometriosis [Text] / F. Taniguchi, A. Kaponis, M. Izawa, T. Kiyama, I. Deura, M. Ito, T. Iwabe, G. Adonakis, N. Terakawa, T. Harada // *Front. Biosci. (Elite Ed.)*. – 2011. – Vol. 3. – P. 648–662.

236. Tao, X. J. Increased expression of complement component 3 in human ectopic endometrium compared with the matched eutopic endometrium [Text] / X. J. Tao, R. A. Sayegh, K. B. Isaacson // *Fertil. Steril.* – 1997. – Vol. 68. – P. 460–467.

237. Taylor, R. N. Mechanistic and therapeutic implications of angiogenesis in endometriosis [Text] / R. N. Taylor, J. Yu, P. B. Torres, A. C. Schickedanz, J. K. Park, M. D. Mueller, N. Sidell // *Reprod. Sci.* – 2009. – Vol. 16. – P. 140–146.

238. Tomassetti, C. Endometriosis, recurrent miscarriage and implantation failure: is there an immunological link? [Text] / C. Tomassetti, C. Meuleman, A. Pexsters, A. Mihalyi, C. Kyama, P. Simsa, T. M. D’Hooghe // *Reprod. Biomed. Online*. – 2006. – Vol. 13. – P. 58–64.

239. Trovo de Marqui, A. B. Genetic polymorphisms and endometriosis: contribution of genes that regulate vascular function and tissue remodeling [Text] / A. B. Trovo de Marqui // *Rev. Assoc. Med. Bras.* – 2012. – Vol. 58, N 5. – P. 620–632.

240. Tsoumpou, I. The effect of surgical treatment for endometrioma on in vitro fertilization outcomes: a systematic review and meta-analysis [Text] / I. Tsoumpou, M. Kyrgiou, T. A. Gelbaya, L. G. Nardo // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 92. – P. 75–87.

241. Upadhyay, R. D. Proteomics in reproductive biology: beacon for unraveling the molecular complexities [Text] / R. D. Upadhyay, N. H. Balasrinor, A. V. Kumar et al. // *Biochem. Biophys. Acta*. – 2013. – Vol. 1834, N 1. – P. 8–15.

242. Urman, B. Removal of unilateral endometriomas is associated with immediate and sustained reduction in ovarian reserve [Text] / B. Urman, E. Alper, K. Yakin, O. Oktem, S. Aksoy, C. Alatas, R. Mercan, B. Ata // *Reprod. Biomed. Online*. – 2013. – Vol. 27, N 2. – P. 212–216.

243. Van der Houwen, L. E. Efficacy and safety of intrauterine insemination in patients with moderate-to-severe endometriosis [Text] / L. E. Van der Houwen, A. M. Schreurs, R. Schats, M. W. Heymans, C. B. Lambalk, P. G. Hompes, V. Mijatovic // *Reprod. Biomed. Online.* – 2014. – Vol. 28, N 5. – P. 590–598.

244. Varma, R. Endometriosis and the neoplastic process [Text] / R. Varma, T. Rollason, J. K. Gupta, E. R. Maher // *Reproduction.* – 2004. – Vol. 127. – P. 293–304.

245. Vercellini, P. Endometriosis: current and future medical therapies [Text] / P. Vercellini, A. Abbiati, R. Daguati et al. // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2008. – Vol. 22. – P. 275–306.

246. Vigano, P. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene polymorphisms in endometriosis [Text] / P. Vigano, M. Infantino, D. Lattuada et al. // *Mol. Hum. Reprod.* – 2003. – N 9. – P. 47–52.

247. Vodolazkaia, A. Panel of plasma biomarkers can predict endometriosis with high sensitivity in patients with ultrasound negative endometriosis [Text] / A. Vodolazkaia, Y. El-Alamat, D. Popovic et al. // *Hum. Reprod.* – 2012. – Vol. 27 (9). – P. 2698–711.

248. Vouk, K. Discovery of phosphatidylcholines and sphingomyelins as biomarkers for ovarian endometriosis [Text] / K. Vouk, N. Hevir, M. Ribić-Pucelj, G. Haarpaintner, H. Scherb, J. Osredkar, G. Möller, C. Prehn, T. L. Rižner, J. Adamski // *Hum. Reprod.* – 2012. – Vol. 27, N 10. – P. 2955–2965.

249. Walczak, H. The CD95 (APO-1/Fas) and the TRAIL (APO-2L) Apoptosis Systems [Text] / H. Walczak, P. H. Krammer // *Exp. Cell Res.* – 2000. – Vol. 256. – P. 58–66.

250. Walter, A. J. Endometriosis: correlation between histologic and visual findings at laparoscopy [Text] / A. J. Walter, J. G. Hentz, P. M. Magtibay, J. L. Cornelia, J. F. Magrina // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2001. – Vol. 184, N 7. – P. 1407–1413.

251. Wang, G. Rich innervations of deep infiltrating endometriosis [Text] / G. Wang, N. Tokushige, R. Markham, I. S. Fraser // *Hum Reprod.* – 2009. – Vol. 24. – P. 827–34.

252. Wassell, J. Haptoglobin: function and polymorphism [Text] / J. Wassell // Clin. Lab. – 2000. – Vol. 46 (11-12). – P. 547–552.

253. Wieser, F. PROGINS receptor gene polymorphism is associated with endometriosis [Text] / F. Wieser, C. Schneeberger, D. Tong et al. // Fertil. Steril. – 2002. – Vol. 77. – P.309–312.

254. Wong, W. M. Common variants of apolipoprotein A-IV differ in their ability to inhibit low density lipoprotein oxidation [Text] / W. M. Wong, A. B. Gerry, W .Putt et al. // Atherosclerosis. – 2007. – Vol. 192, N 2. – P. 266–274.

255. Wu, M. Y. The role of cytokines in endometriosis [Text] / M. Y. Wu, H. N. Ho // Am. J. Reprod. Immunol. – 2003. – Vol. 49. – P. 285–296.

256. Xavier, P. Serum Levels of VEGF and TNF-alpha and Their association with C-reactive protein in patients with endometriosis [Text] / P. Xavier, L. Belo, J. Berires, I. Redelo, J. Martinez-de-Oliveira, N. Lunet et al. // Arch. Gynecol. Obstet. – 2006. – Vol. 273. – P. 227–31.

257. Xu, Y. Structural biology of the alternative pathway convertase [Text] / Y. Xu, S. V. L. Narayana, J. E. Volanakis // Immunol. Rev. – 2001. – Vol. 180. – P. 123–135.

258. Yuan, J. A first insight into the molecular mechanisms of apoptosis [Text] / J. Yuan, H. R. Horvitz // Cell. – 2004. – Vol. 116, Suppl. 2. – P. S53–56.

259. Zeyneloglu, H. B. The peritoneal fluid levels of inter-leukin-6 in women with endometriosis [Text] / H. B. Zeyneloglu, L. M. Senturk, E. Seli et al. // Am. J. Reprod. Immunol. – 1998. – Vol. 39, N 2. – P. 152–156.

260. Zhang, H. Use of proteomic analysis of endometriosis to identify different protein expression in patients with endometriosis versus normal controls [Text] / H. Zhang, Y. Niu, J. Feng, H. Guo, X. Ye, H. Cui // Fertil. Steril. – 2006. – Vol. 86. – P. 274–282.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1 Корреляционный анализ.

Gr0 Siv	C4-b	СЭФР	sFASL
C3	0,5	-0,6	
	p=,048	p=,011	
C4-b			-0,5
			p=,042

Gr0 Perit	C4-b	ГСПГ	sFASL
Апо- AIV		0,6	0,6
		p=,022	p=,031
C3	0,6	0,7	
	p=,017	p=,006	

Gr1 Siv	C4-b
C3	0,9
	p=,000

Gr1 Perit	C4-b	sFASL
C3	0,7	
	p=,009	
C4-b		-0,5
		p=,045

Gr2 Siv	C4-b	sFASL
C3	0,5	
	p=,036	
СЭФР_R1		0,5
		p=,035

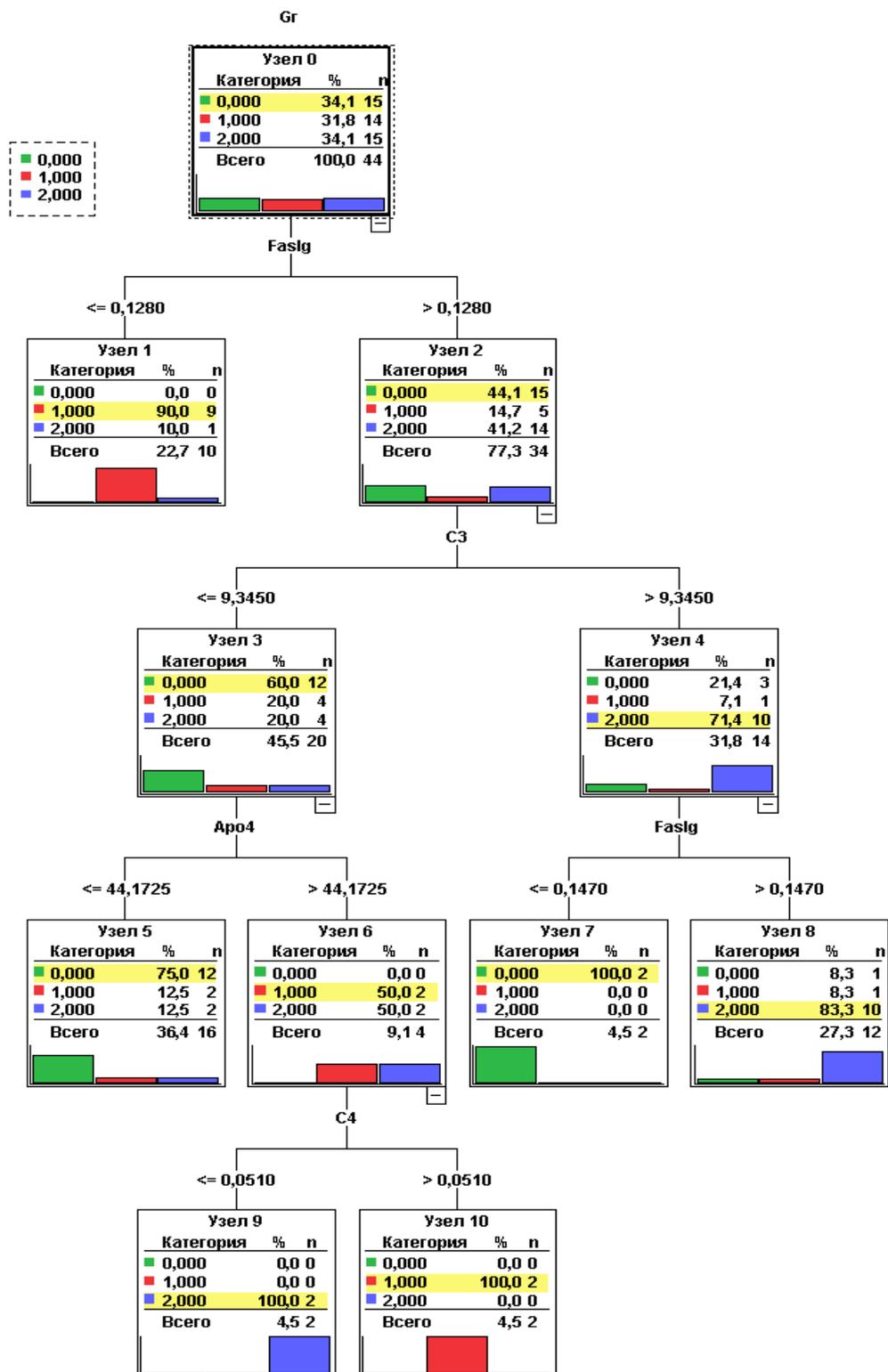
Gr2 Perit	СЭФР_R1	sFASL
Апо- AIV	0,6	
	p=,024	
СЭФР		0,6
		p=,018

Примечание:

группа контроля – Gr 0, НГЭ I-II стадии – Gr 1, НГЭ III-IV стадии – Gr 2.

Siv – сыворотка крови, Perit – перитонеальная жидкость.

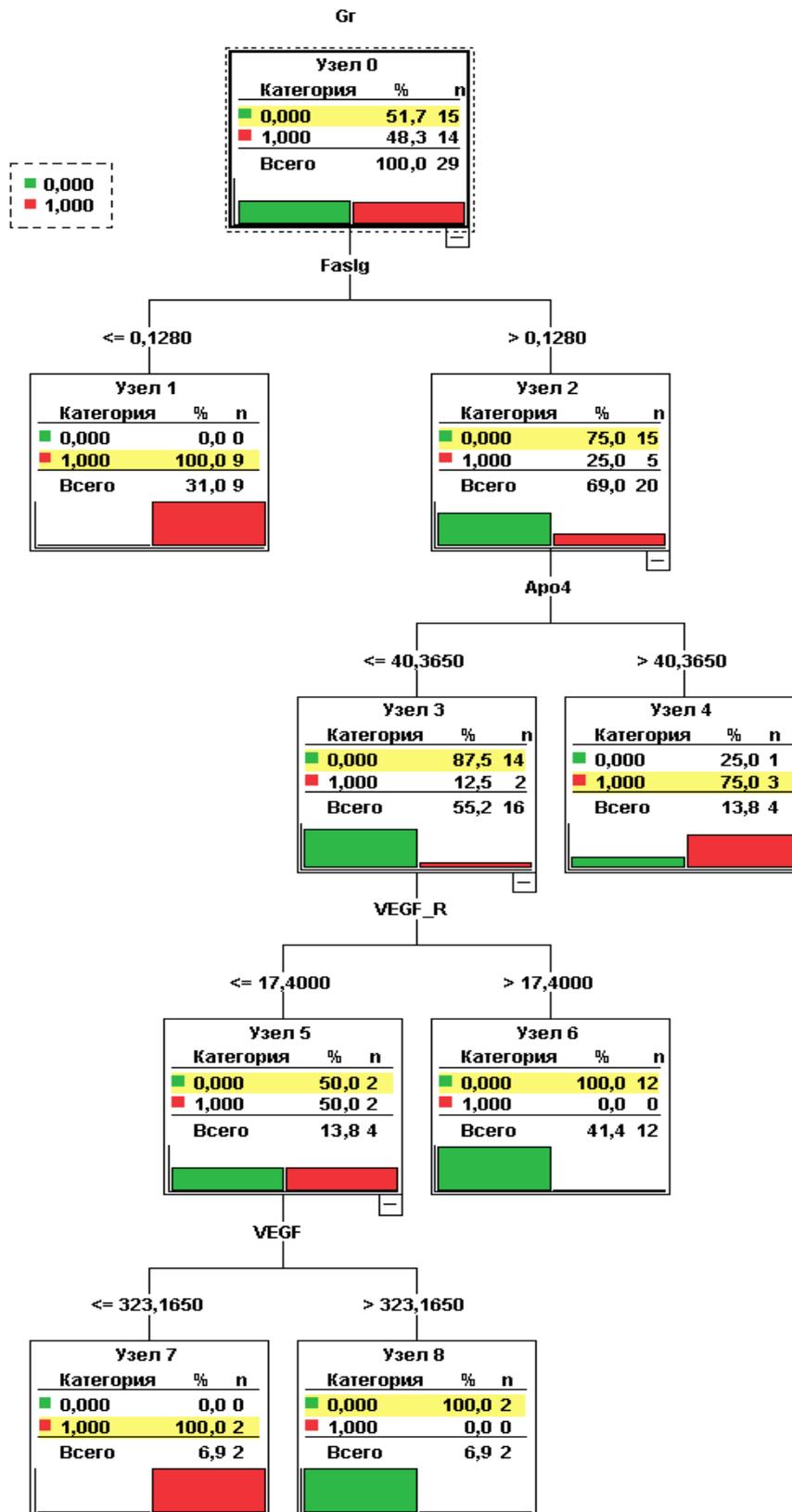
Приложение 2 «Дерево решений». Сыворотка крови – группа контроля (0), НГЭ I-II стадии (1), НГЭ III-IV стадии (2).



Классификация

Наблюденные	Предсказанные			Процент правильных
	0	1	2	
0	14	0	1	93,3%
1	2	11	1	78,6%
2	2	1	12	80,0%
Общая процентная доля	40,9%	27,3%	31,8%	84,1%

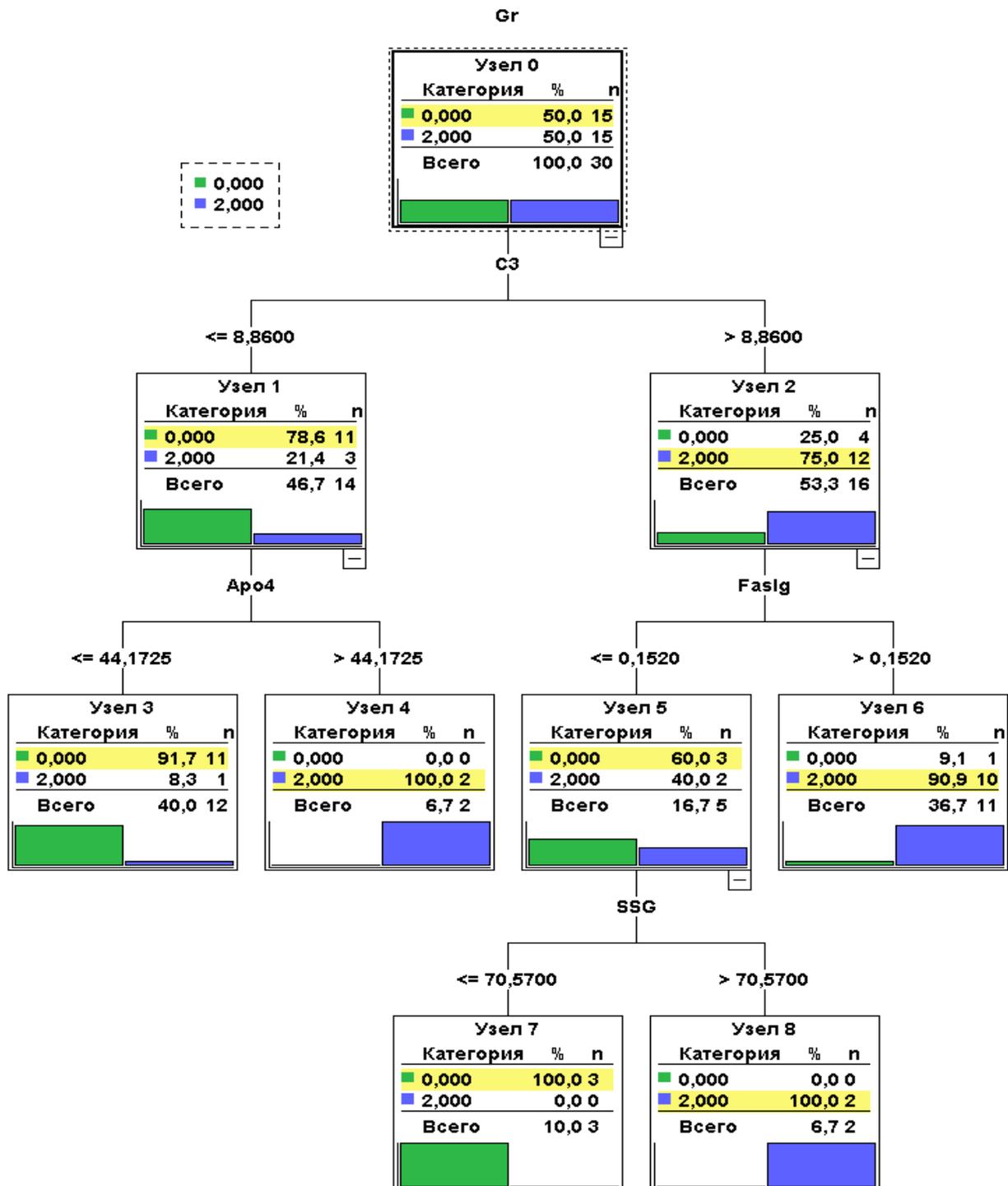
Приложение 3 «Дерево решений». Сыворотка крови – группа контроля (0), НГЭ I-II стадии (1).



Классификация

Наблюдаемые	Предсказанные		
	0	1	Процент правильных
0	14	1	93,3%
1	0	14	100,0%
Общая процентная доля	48,3%	51,7%	96,6%

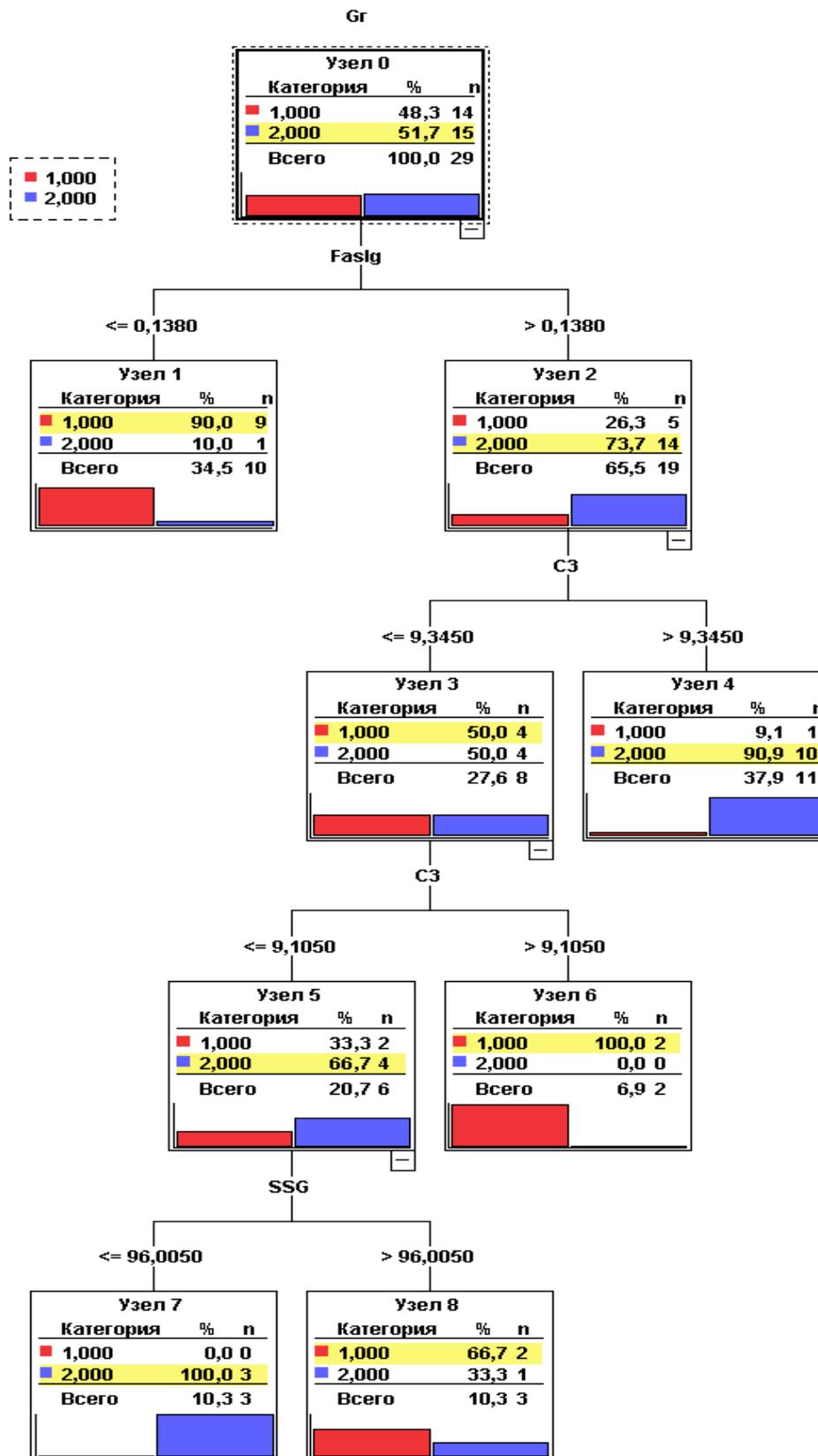
Приложение 4 «Дерево решений». Сыворотка крови – группа контроля (0), НГЭ III-IV стадии (2).



Классификация

Наблюденные	Предсказанные		
	0	2	Процент правильных
0	14	1	93,3%
2	1	14	93,3%
Общая процентная доля	50,0%	50,0%	93,3%

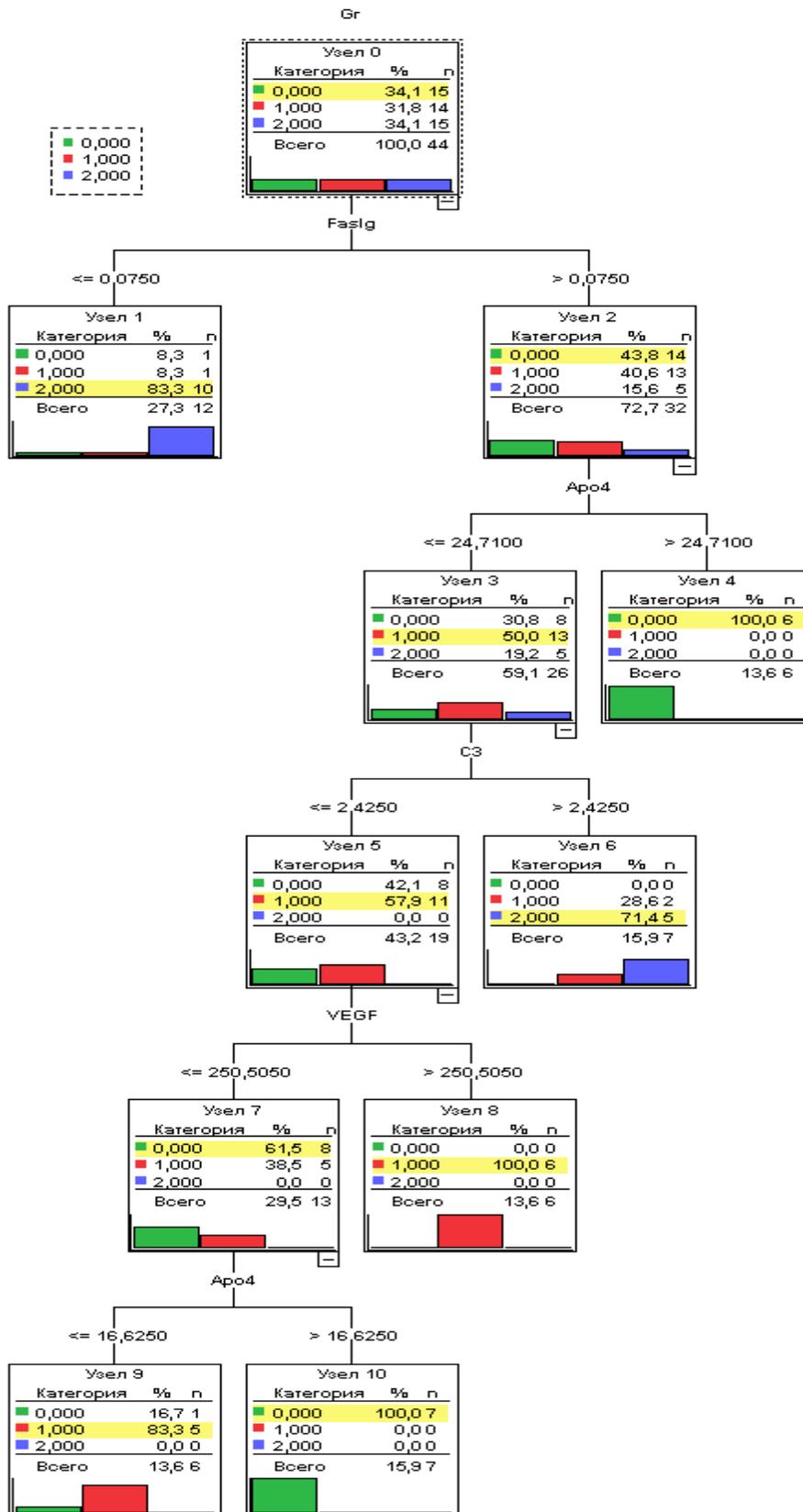
Приложение 5 «Дерево решений». Сыворотка крови – НГЭ I-II стадии (1), НГЭ III-IV стадии (2).



Классификация

Наблюденные	Предсказанные		
	1	2	Процент правильных
1	13	1	92,9%
2	2	13	86,7%
Общая процентная доля	51,7%	48,3%	89,7%

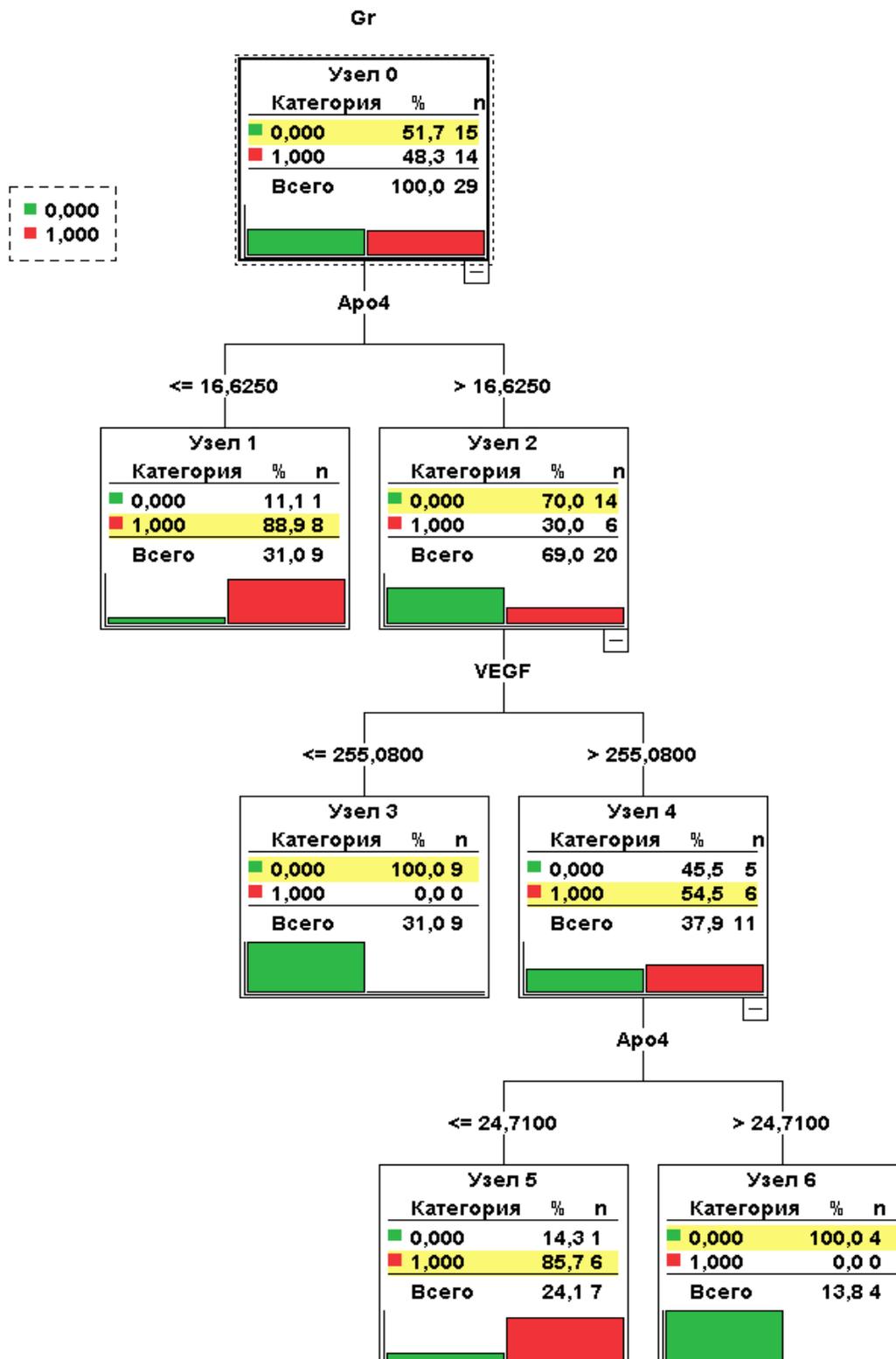
Приложение 6 «Дерево решений». Перитонеальная жидкость – группа контроля (0), НГЭ I-II стадии (1), НГЭ III-IV стадии (2).



Классификация

Наблюдаемые	Предсказанные			Процент правильных
	0	1	2	
0	13	1	1	86,7%
1	0	11	3	78,6%
2	0	0	15	100,0%
Общая процентная доля	29,5%	27,3%	43,2%	88,6%

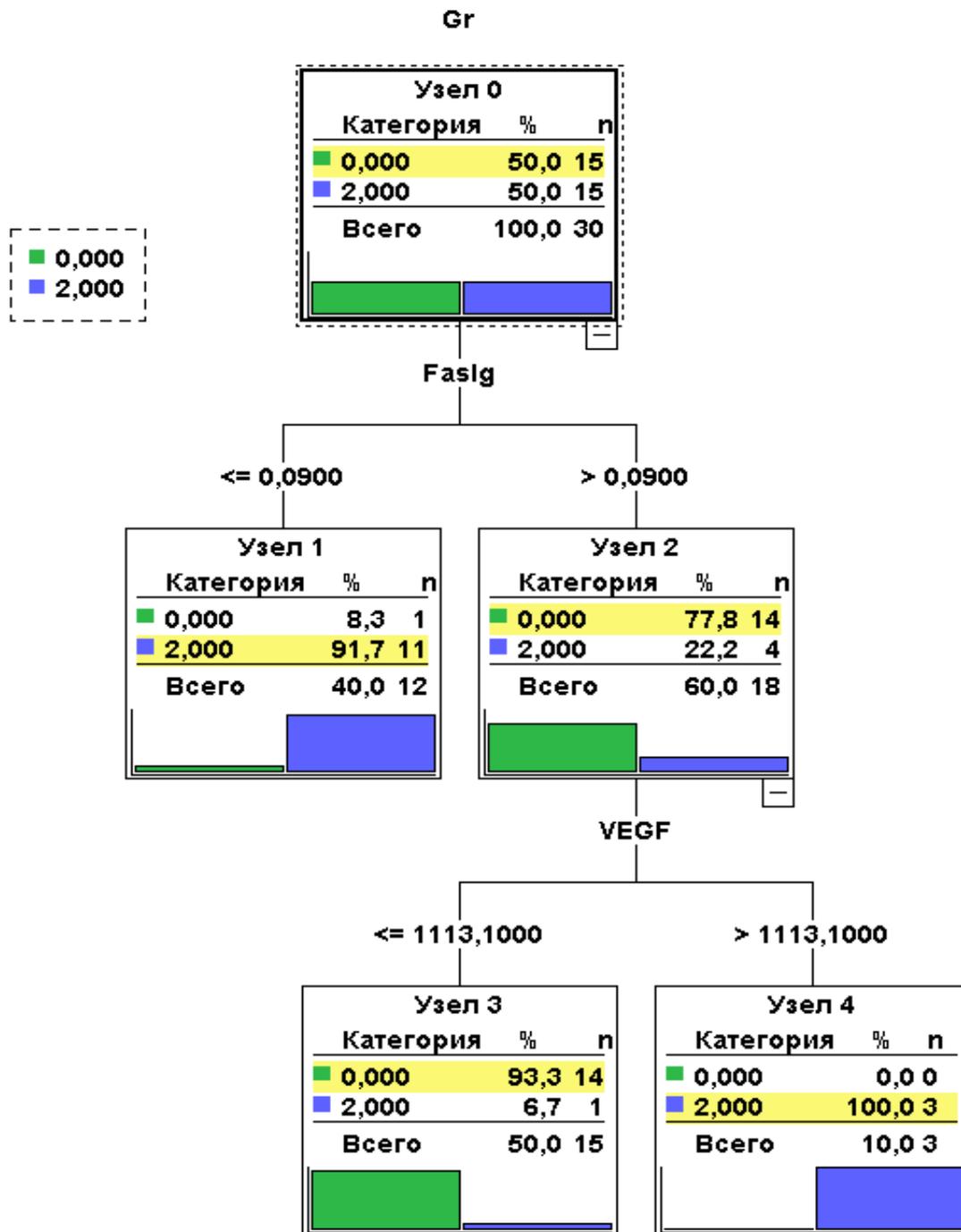
Приложение 7 «Дерево решений». Перитонеальная жидкость – группа контроля (0), НГЭ I-II стадии (1).



Классификация

Наблюдаемые	Предсказанные		
	0	1	Процент правильных
0	13	2	86,7%
1	0	14	100,0%
Общая процентная доля	44,8%	55,2%	93,1%

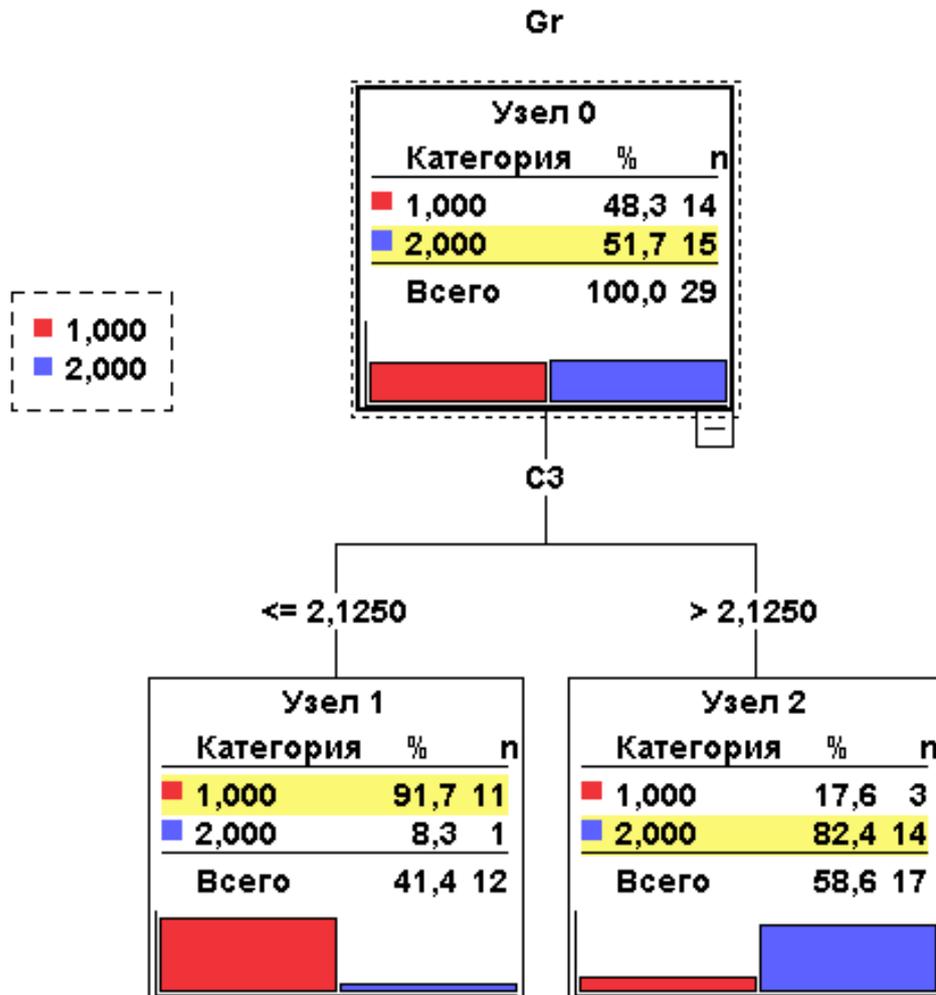
Приложение 8 «Дерево решений». Перитонеальная жидкость – группа контроля (0), НГЭ III-IV стадии (2).



Классификация

Наблюденные	Предсказанные		
	0	2	Процент правильных
0	14	1	93,3%
2	1	14	93,3%
Общая процентная доля	50,0%	50,0%	93,3%

Приложение 9 «Дерево решений». Перитонеальная жидкость – НГЭ I-II стадии (1), НГЭ III-IV стадии (2).



Классификация

Наблюдаемые	Предсказанные		
	1	2	Процент правильных
1	11	3	78,6%
2	1	14	93,3%
Общая процентная доля	41,4%	58,6%	86,2%