

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ОХРАНЫ
МАТЕРИНСТВА И МЛАДЕНЧЕСТВА

На правах рукописи

ОКУЛОВА ЕКАТЕРИНА ОЛЕГОВНА

**ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСониФИЦИРОВАННОЙ ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ
ГЛУБОКОГО ИНФИЛЬТРАТИВНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА У ЖЕНЩИН
РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА**

3.1.4. Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук, доцент
О.А. Мелкозерова,
кандидат медицинских наук, доцент
Т.Б. Третьякова

Екатеринбург - 2022

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1	15
ВЛИЯНИЕ ГЛУБОКОГО ИНФИЛЬТРАТИВНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА И ЕГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ НА ОВАРИАЛЬНЫЙ РЕЗЕРВ У ПАЦИЕНТОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА	15
(ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)	15
1.1. Влияние глубокого инфильтративного эндометриоза на состояние овариального резерва у женщин репродуктивного возраста	17
1.2. Роль регуляторов апоптоза и ангиогенеза в изменении овариального резерва при эндометриозе	20
1.3. Влияние хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза на состояние овариального резерва у женщин репродуктивного возраста	31
ГЛАВА 2	42
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
2.1. Материал и дизайн исследования	42
2.2. Методы исследования	52
2.2.1. Общеклиническое обследование	52
2.2.2. Ультразвуковое исследование органов малого таза	53
2.2.3. Магнитно-резонансная томография органов малого таза	54
2.2.4. Иммуноферментный анализ	54
2.2.5. Молекулярно-генетические методы исследования	55
2.2.6. Гистологическое исследование	56
2.2.7. Иммуногистохимическое исследование	57
2.2.8. Математические методы	59
2.3 Клиническая характеристика пациенток в группах наблюдения	62
2.3.1. Клиническая характеристика пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом	62
2.3.2. Состояние овариального резерва и его динамика после хирургического лечения у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом	76

2.3.3. Клинические особенности пациенток со значимым снижением овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза	86
ГЛАВА 3.....	104
<i>МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ СНИЖЕНИЯ ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ГЛУБОКОГО ИНФИЛЬТРАТИВНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА.....</i>	104
3.1. Исследование мутаций генов PI3K/AKT/mTOR сигнального пути в тканях яичников у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом	104
3.2. Результаты исследования полиморфизмов генов, регулирующих апоптоз и ангиогенез, у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом	107
3.3. Результаты исследования межгенных взаимодействий генов, регулирующих апоптоз и ангиогенез, у женщин с глубоким инфильтративным эндометриозом	111
ГЛАВА 4.....	116
<i>ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СНИЖЕНИЯ ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ГЛУБОКОГО ИНФИЛЬТРАТИВНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА.....</i>	116
4.1. Иммуногистохимические особенности экспрессии эстрогеновых рецепторов, регуляторов апоптоза и ангиогенеза в корковой ткани яичника при глубоком инфильтративном эндометриозе	116
4.2 Иммуногистохимические особенности корковой ткани яичника и очагов эндометриоза у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва	119
ГЛАВА 5.....	130
<i>ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОГО ПОДХОДА В СТРАТЕГИИ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С ГЛУБОКИМ ИНФИЛЬТРАТИВНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ</i>	130
5.1. Прогнозирование риска глубокого инфильтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста	130
5.2. Разработка компьютерного программного продукта прогнозирования риска снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного	

возраста после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза	132
<i>ОБСУЖДЕНИЕ</i>	<i>142</i>
<i>ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</i>	<i>158</i>
<i>ВЫВОДЫ</i>	<i>159</i>
<i>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</i>	<i>161</i>
<i>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</i>	<i>163</i>
<i>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</i>	<i>164</i>

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Несмотря на колоссальные успехи, достигнутые в последние десятилетия в изучении патогенетических механизмов эндометриоза, глобальный прорыв в развитии хирургической техники лечения инфильтративных форм эндометриоза, значительные достижения в разработке новых лекарственных препаратов для лечения симптомных проявлений заболевания, эндометриоз остается одной из наиболее сложных и контраверсионных проблем репродуктивной медицины [146]. Это обусловлено, с одной стороны, высокой распространенностью заболевания. По оценкам экспертов, в мире каждая десятая женщина репродуктивного возраста страдает эндометриозом [95]. С другой стороны, учитывая многоликость клинических симптомов: циклические и хронические боли, бесплодие, аномальные маточные кровотечения, нарушение функции соседних органов, существует большой диагностический пробел между появлением симптомов заболевания и достоверным диагнозом, который составляет в среднем 8-12 лет [4, 59, 95]. За это время происходит не только прогрессирование заболевания, значимо усложняющее его лечение, но и закономерно снижается овариальный резерв пациенток. А, исходя из того, что 35-50% больных эндометриозом бесплодны, и в многочисленных исследованиях продемонстрировано снижение эффективности вспомогательных репродуктивных технологий при данном заболевании [37, 56, 172, 176, 177], особую актуальность представляет углубленное изучение молекулярно-биологических механизмов негативного влияния генитального эндометриоза на состояние овариального резерва для совершенствования диагностики заболевания и повышения эффективности преодоления эндометриоз-ассоциированного бесплодия [39].

В современной литературе представлены многочисленные исследования, в том числе данные метаанализа, относительно негативного влияния цистэктомии, проводимой по поводу эндометриом яичника, на состояние овариального резерва [51, 85, 190], однако исследования по влиянию хирургического лечения

инфильтративных форм эндометриоза на овариальный резерв крайне ограничены. В последние годы ученые сходятся во мнении, что хирургическое удаление эндометриоидных кист яичника вызывает стойкое снижение овариального резерва, особенно при выполнении двусторонней цистэктомии [51, 85, 190].

Ученые ведут активный поиск путей максимального сохранения овариального резерва при удалении эндометриом яичников. Представлены новые хирургические методики, направленные на достижение надежного гемостаза в области ложа кисты при выполнении кистэктомии с минимальным влиянием на прилежащую здоровую ткань яичника [68, 82, 88, 145, 163, 186].

Однако влияние хирургического лечения глубокого инфилтративного эндометриоза на состояние овариального резерва остается малоизученным, в связи с чем в настоящее время в мировом профессиональном сообществе нет согласия о необходимости хирургического лечения, как первой линии, у пациенток с инфилтративным эндометриозом в сочетании с нарушением фертильности [44, 103]. Актуальной задачей на современном этапе представляется определение критериев выбора оптимальной стратегии ведения пациенток с глубоким инфилтративным эндометриозом в сочетании с бесплодием.

Несмотря на то, что недавние исследования демонстрируют эффективность сохранения фертильности с применением криоконсервации ооцитов либо витрификации овариальной ткани у женщин с эндометриозом, многие вопросы, такие как экономическая эффективность и безопасность, остаются нерешенными, а также отсутствуют четкие критерии отбора пациенток для применения данных методик [84, 105].

Для выбора оптимальной тактики ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфилтративным эндометриозом и решения вопроса о необходимости применения методов ВРТ, в том числе банкинга ооцитов, до оперативного лечения, необходимо понимать, каким образом хирургическое лечение повлияет на исходно скомпрометированный овариальный резерв. Для этого требуется поиск клинико-инструментальных, молекулярно-биологических и

генетических предикторов снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста.

Степень разработанности темы исследования

Одной из существенных причин бесплодия у пациенток с эндометриозом является истощение овариального резерва. Исследования последних лет подтверждают снижение овариального резерва у пациенток с генитальным эндометриозом вне зависимости от локализации эктопических очагов [69,157].

Механизм снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе (ГИЭ) до настоящего времени не установлен. В эндометриоидных очагах выявляются генетические и эпигенетические мутации, участвующие в онкогенной трансформации [115]. Как и в случае неопластического процесса, при эндометриозе наблюдается повышенная способность клеток эндометрия к атопической миграции, инвазии и метастазированию, выражены черты клеточной атипии, повышены неоангиогенез и устойчивость клеток к апоптозу и элиминации иммунной системой [118].

Активация антиапоптотических сигнальных путей и неоангиогенеза при эндометриозе не только способствует малигнизации с развитием светлоклеточного и эндометриоидного рака яичников, но также может влиять на овариальный резерв при данном заболевании [115, 165].

Нарушение регуляции апоптоза и ангиогенеза при эндометриозе в последние годы рассматривают, как одни из важнейших причин снижения овариального резерва при данном заболевании вследствие преждевременной активации примордиальных фолликулов и раннего их истощения, а также нарушения фолликулярной оксигенации [81, 102, 125].

Изучение маркеров дисрегуляции процессов апоптоза и ангиогенеза может быть перспективным для поиска предикторов снижения овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом.

Понимание механизмов снижения овариального резерва поможет найти

ключ к выбору персонифицированной тактики ведения пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, страдающих бесплодием и улучшить репродуктивные исходы.

Цель работы

Совершенствование тактики ведения женщин репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом на основании прогнозирования овариального ответа на хирургическое лечение с учетом геномных и посттранскрипционных факторов

Задачи исследования

1. Изучить влияние глубокого инфильтративного эндометриоза и его хирургического лечения на состояние овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста.

2. Определить клинико-anamнестические детерминанты снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза.

3. Выявить молекулярно-генетические предикторы снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного с глубоким инфильтративным эндометриозом.

4. Оценить значение экспрессии белков-регуляторов апоптоза, ангиогенеза и рецепторов половых гормонов в гранулезной ткани фолликулов яичника в аспекте посттранскрипционной регуляции параметров овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом.

5. Усовершенствовать алгоритм ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом на основании разработки и создания компьютерной программы прогнозирования риска послеоперационного снижения овариального резерва.

Научная новизна исследования

Разработана принципиально новая научная идея, существенно обогащающая современную парадигму о роли дисрегуляции процессов апоптоза и ангиогенеза в снижении овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе.

Углублены и дополнены сведения о влиянии глубокого инфильтративного эндометриоза, а также его хирургического лечения на изменение параметров овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста.

Получены приоритетные данные о роли полиморфизмов генов-регуляторов апоптоза и ангиогенеза, а также их межгенных взаимодействий в развитии глубокого инфильтративного эндометриоза и ассоциированного с ним снижения овариального резерва.

Определено влияние экспрессии белков-регуляторов апоптоза, ангиогенеза и рецепторов половых гормонов в гранулезной ткани фолликулов яичника на послеоперационное изменение овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом.

Теоретическая и практическая значимость работы

Расширены представления о генетически детерминированных механизмах сочетанной дисрегуляции апоптоза и ангиогенеза, лежащих в основе снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе у пациенток репродуктивного возраста.

Разработан способ прогнозирования риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста с учетом клинико-генетических маркеров.

Впервые разработана и создана компьютерная программа прогнозирования снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза.

На основании разработанных моделей прогнозирования был усовершенствован персонифицированный алгоритм ведения пациенток

репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом в аспекте восстановления фертильности.

Методология и методы исследования

Методология данной работы была основана на принципах доказательной медицины и складывалась из двух этапов. Целью первого этапа явилась оценка влияния глубокого инфильтративного эндометриоза и его хирургического лечения на состояние овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста. Методология первого этапа - проспективное сравнительное когортное исследование. На втором этапе была проведен поиск предикторов послеоперационного снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза. Методология второго этапа – ретроспективное исследование «случай-контроль».

Для реализации поставленных в работе цели и задач использовался комплексный подход, включающий клинико-anamнестические, молекулярно-биологические, ультразвуковые, молекулярно-генетические, иммуногистохимические, статистические методы исследования. Выбор использованных в работе методов исследования определялся в соответствии с отраслевыми стандартами обследования в гинекологии, рекомендациями по лабораторной диагностике и статистическими исследованиями.

Положения, выносимые на защиту

1. Хирургическое лечение глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста может приводить к снижению овариального резерва, исходно скомпрометированного заболеванием, независимо от возраста и наличия эндометриомы яичника. Клинико-anamнестическими предикторами снижения овариального резерва у пациенток после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза являются наличие первичного эндометриоз-ассоциированного бесплодия, а также длительность течения заболевания более двух лет.

2. В развитии глубокого инфильтративного эндометриоза и ассоциированного с ним снижения овариального резерва у женщин репродуктивного возраста определяющую роль играет межгенное взаимодействие однонуклеотидных полиморфизмов генов, регулирующих антиапоптотический сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR, p53-зависимый апоптоз и ангиогенез.

3. Выраженное послеоперационное снижение овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом ассоциировано с активацией антиапоптотического сигнального пути PI3K/Akt/mTOR и компенсаторной сенсбилизацией клеток коркового вещества яичников к p53-зависимому апоптозу, а также подавлением ангиогенного потенциала и формированием резистентности к эстрогенам в гранулезной ткани фолликулов яичника.

4. Разработанная компьютерная программа прогнозирования риска послеоперационного снижения овариального резерва на основании клинико-генетических маркеров является эффективным инструментом при выборе верной лечебной тактики у пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом, планирующих беременность.

Степень достоверности и апробация работы

Исследование проводилось в соответствии с принципами доказательной медицины. Достоверность результатов работы обоснованность выводов и рекомендаций базируется на достаточном числе наблюдений, широком спектре методов исследования с использованием рекомендуемых статистических методик и прикладных статистических пакетов программ IBM SPSS 26.0.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на VI Конгрессе акушеров-гинекологов УФО с международным участием «Инновации перинатальной и репродуктивной медицины» (Екатеринбург, 2019 г), XXI научно-образовательном Форуме "Мать и дитя" (Москва, 2020), VII Конгрессе акушеров-гинекологов УФО «Женское здоровье: от рождения до менопаузы» (Екатеринбург, 2020), V Общероссийском научно-практическом семинаре

«Репродуктивный потенциал России: Уральские чтения» (Екатеринбург, 2021), V Конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы здоровья матери и ребенка. Уроки пандемии COVID 19» (Иваново, 2021), III Всероссийской конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Естественнонаучные основы медико-биологических знаний» (Рязань, 2021; победитель конкурса молодых ученых), международном онлайн-конгрессе «Endometriosis 2021» (Рим, Италия, 2021), VII научно-практической конференции «Малышевские чтения: охрана материнства и младенчества в реалиях XXI века» (Екатеринбург, 2021), XXXIV международном конгрессе с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2021; I место в конкурсе молодых ученых), международном онлайн-конгрессе «RCOG Virtual World Congress 2021» (Лондон, Великобритания, 2021; удостоена награды «Лучший доклад в секции «Эндометриоз»), VIII Конгрессе акушеров-гинекологов, неонатологов, педиатров, реаниматологов-анестезиологов УФО в дистанционном режиме «Современные перинатальные и репродуктивные технологии в охране здоровья семьи» (Екатеринбург, 2021), международном конгрессе «ENDO Dubai 2022» (Дубай, 2022), международном онлайн-конгрессе «RCOG Virtual World Congress 2022» (Лондон, Великобритания, 2022), Всероссийской конференции акушеров-гинекологов, неонатологов, анестезиологов-реаниматологов «145 лет лидерства в перинатальной медицине», посвященной 145-летию ФГБУ «НИИ ОММ» (Екатеринбург, 2022), XXXV Международном Конгрессе с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2022).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Основная идея, планирование научной работы, включая формулировку рабочей гипотезы, цели, задач исследования, определение методологии, общей концепции и дизайна диссертационного исследования проводились совместно с научными руководителями, д.м.н., доц. О.А.Мелкозеровой, к.м.н. Третьяковой Т.Б., при непосредственном участии Ученого совета ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ. Дизайн исследования разработан

лично диссертантом.

Автором работы лично были проанализированы и обобщены данные отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Исследователь лично осуществлял формирование клинических групп наблюдения, самостоятельно проводил клиническое обследование, наблюдение, участвовал в хирургическом лечении пациентов. Автором лично проведен анализ и интерпретация клинических, лабораторных и морфологических данных, их систематизация и статистическая обработка, написание и оформление рукописи диссертации, представление результатов работы в научных публикациях и в виде докладов на конференциях.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты проведенной работы внедрены в клиническую практику ФГБУ «Уральский НИИ Охраны материнства и младенчества» МЗ РФ (Екатеринбург), используются в учебном процессе в программах клинической ординатуры и постдипломного образования в ФГБУ «Уральского НИИ Охраны материнства и младенчества» МЗ РФ, кафедры акушерства и гинекологии и кафедры акушерства и гинекологии факультета повышения квалификации и профессиональной подготовки ГБОУ ВПО «Уральского государственного медицинского университета» МЗ РФ.

Публикации

Соискатель имеет 21 опубликованную работу, из них по теме диссертации - 15 научных работ, в том числе 8 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных для опубликования основных научных результатов диссертаций. Соискатель имеет 2 приоритетные справки на изобретение, 4 работы в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 187 страницах машинописного текста, иллюстрирована 36 рисунками и 49 таблицами и состоит из введения, обзора

литературы, пяти глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель включает 195 источников, из них 59 — отечественных и 136 — зарубежных источников.

ГЛАВА 1

ВЛИЯНИЕ ГЛУБОКОГО ИНФИЛЬТРАТИВНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА И ЕГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ НА ОВАРИАЛЬНЫЙ РЕЗЕРВ У ПАЦИЕНТОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Эндометриоз – патологический процесс, при котором определяется наличие ткани по морфологическим и функциональным свойствам подобной эндометрию вне полости матки. Несмотря на способность к инфильтративному росту, склонность к рецидивированию, тенденцию к инвазии, эндометриоз относится к доброкачественным пролиферативным заболеваниям [59].

Эндометриоз, по данным разных авторов, выявляется у 5 - 15% женщин репродуктивного возраста. В связи с тем, что эндометриоз может протекать бессимптомно, его истинную распространенность оценить затруднительно [148].

Эндометриоз традиционно подразделяют на генитальный и экстрагенитальный, а генитальный, в свою очередь, — на внутренний (эндометриоз тела матки) и наружный (эндометриоз шейки матки, влагалища, промежности, ретроцервикальной области, яичников, маточных труб, брюшины, прямокишечно-маточного углубления) [59].

Глубокий инфильтративный эндометриоз (ГИЭ) – форма эндометриоза, при которой эктопические очаги прорастают на глубину более чем 5 мм в забрюшинное пространство. ГИЭ встречается у 20–50% больных с генитальным эндометриозом. Эндометриоидные очаги при данной форме эндометриоза чаще всего локализуются на крестцово-маточных связках, в области ректовагинальной перегородки и пузырно-маточной складки, а также могут инфильтрировать влагалище, прямую и сигмовидную кишки, мочеточники и мочевой пузырь [19, 46].

До настоящего времени этиология эндометриоза не установлена. Из предложенных многочисленных гипотез ни одна не стала окончательно

доказанной и общепринятой. Существует множество теорий патогенеза эндометриоза: имплантационная, метапластическая, эмбриональная, дисгормональная, теория нарушения иммунного баланса, генетическая и др. Лидирующей до сих пор является теория ретроградной менструации, впервые описанная J. Sampson (1920). Очевидно, что сама по себе ретроградная менструация не способна вызвать эндометриоз. Для этого нужны более сложные предрасполагающие патофизиологические процессы.

В последнее время изучается новая ветвь этой теории, которая подразумевает, что ключевым патогенным механизмом служит трансформация мезотелия брюшины в мезенхимальную ткань, так называемый эпителиально-мезенхимальный переход [188].

Одним из ключевых механизмов распространения эндометриоидных очагов при эпителиально-мезенхимальном переходе служит устойчивость клеток к апоптозу, который представляет собой частный случай апоптоза, возникающий в ответ на утерю контакта клетки с субстратом или неправильную адгезию, что и происходит при ретроградной менструации [153].

Одна из наиболее частых причин обращения больных эндометриозом за врачебной помощью – бесплодие, которым страдают от 25 до 50% пациенток с данным заболеванием. Точная патофизиология бесплодия при эндометриозе не установлена, предполагается многофакторное воздействие генетически и морфологически измененной эндометриоидной ткани на органы репродуктивной системы [4, 17, 58].

Наиболее изученные причины бесплодия при данном заболевании: нарушение анатомии тазовых органов, изменение свойств перитонеальной жидкости, изменение гормональных взаимодействий, эндокринные и овуляторные аномалии, нарушение имплантации, снижение качества ооцитов и эмбрионов, снижение транспортной функции маточных труб [50, 53, 72, 108].

Среди разнообразных факторов, определяющим бесплодие или субфертильность у женщин с эндометриозом, наиболее важным является истощение пула остаточных фолликулов яичника [125, 147].

1.1. Влияние глубокого инфильтративного эндометриоза на состояние овариального резерва у женщин репродуктивного возраста

Под овариальным резервом понимают функциональный резерв яичника, который определяет способность последнего к развитию здорового фолликула с полноценной яйцеклеткой и адекватному ответу на овариальную стимуляцию [16, 51].

Для определения овариального резерва оценивают следующие параметры: возраст женщины, количество антральных фолликулов при ультразвуковом исследовании, уровень антимюллера гормона (АМГ), уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и эстрадиола. При применении методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) дополнительными параметрами овариального резерва являются ответ на стимуляцию гонадотропинами, и оценка ооцитов и/или эмбрионов во время программы ВРТ, основанная на числе, морфологии или генетической оценке ооцитов и/или эмбрионов [16, 38].

Одним из основных естественных факторов, который приводит к снижению овариального резерва, является возраст женщины. Исследования показали, что скорость исчезновения фолликулов удваивается, когда примордиальный пул сокращается до 25000 фолликулов, что в норме соответствует возрасту 37,5 лет. Этот возраст определяется как критический, после которого овариальный резерв резко снижается [12]. Возраст старше 40 лет относится к критериям риска "бедного овариального ответа" на стимуляцию в программах ВРТ согласно Болонским рекомендациям Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) [16, 98].

В настоящее время для оценки состояния овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста чаще всего используют определение уровня антимюллера гормона в сыворотке крови и подсчет числа антральных фолликулов в яичниках по данным ультразвукового исследования (УЗИ).

Антимюллеров гормон – гликопротеин, член семейства трансформирующего фактора роста- β , в организме взрослой женщины регулирует

раннюю фазу развития фолликулов, рекрутирование пула фолликулов и созревание яйцеклеток [86, 172]. АМГ является наиболее ранним и чувствительным маркером овариального «старения». Уровень АМГ надежно отражает величину овариального резерва, поскольку гормон продуцируется непосредственно гранулезными клетками фолликулов, коррелирует с числом антральных фолликулов в яичниках и не меняется в течение менструального цикла, а также не зависит от приема лекарственных средств, в том числе гормональных [79, 110].

Количество антральных фолликулов (КАФ) представляет собой сумму антральных фолликулов в яичниках в ранней фолликулярной фазе цикла. Антральные фолликулы определяют, как фолликулы со средним диаметром 3-10 мм в наибольшей двумерной плоскости [26, 40]. Поскольку точность подсчета КАФ может зависеть от квалификации врача, выполняющего УЗИ, данный маркер должен оцениваться в совокупности с определением сывороточного уровня АМГ [70].

Критериями сниженного овариального резерва, согласно Болонским рекомендациям ESHRE, являются: количество антральных фолликулов менее 5-7 в одном ультразвуковом срезе и концентрация сывороточного АМГ менее 0,5-1,1 нг/мл [98].

В работах Л.В. Адамян и соавт. было показано нарушение фолликулогенеза яичников женщин с эндометриозом, характеризующееся снижением общего числа фолликулов всех стадий развития [3, 35]. В крупном популяционном исследовании выявлено также, что пациентки с лапароскопически подтверждённым эндометриозом подвержены риску раннего наступления менопаузы (до 45 лет) [174].

Множество исследований подтверждают значительное снижение овариального резерва у пациенток с эндометриоидными кистами яичников [51, 143]. Кроме того, Isil Kasapoglu и соавт. (Турция, 2018) в проспективном исследовании показали, что у пациенток с эндометриозами яичников происходит более быстрое снижение уровня АМГ в крови с течением времени по сравнению со

здоровыми женщинами [111].

Исследования же по влиянию глубокого инфильтративного эндометриоза на состояние овариального резерва весьма немногочисленны, в связи с чем представляют особый интерес.

Ashrafi M. и соавт. (Иран, 2019) исследовали влияние эндометриоидных очагов различной локализации на состояние овариального резерва и результаты вспомогательных репродуктивных технологий (n=276). Результаты показали, что наличие эндометриоза было связано со значительным снижением уровня АМГ ($1,8 \pm 2,5$ нг/мл) и КАФ ($8,2 \pm 3,9$) по сравнению с контрольной группой, где средний показатель АМГ составил $2,9 \pm 1,7$ нг/мл ($p < 0,001$), КАФ – $12,0 \pm 4,8$ ($p < 0,001$). Интересно отметить, что уровни АМГ и КАФ были значимо снижены по сравнению с контролем как у пациенток с наличием только эндометриомы яичника (АМГ - $1,9 \pm 1,9$ нг/мл, КАФ – $8,4 \pm 4,3$, $p < 0,001$), так и у пациенток с наличием глубокого инфильтративного эндометриоза без эндометриомы яичника ($1,8 \pm 1,9$ нг/мл, $7,8 \pm 3,6$, $p < 0,001$). При этом наименьший уровень АМГ и наименьшее КАФ отмечались у пациенток с сочетанием глубокого инфильтративного эндометриоза и эндометриомы яичника (АМГ - $1,4 \pm 1,4$ нг/мл, КАФ - $6,7 \pm 3,2$, при сравнении с контролем $p < 0,001$). Снижение овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом коррелировало со снижением частоты наступления клинической беременности и живорождения при применении методов ВРТ [69].

В ретроспективном когортном исследовании Romanski PA и соавт. (США, 2019) также продемонстрировали снижение уровня АМГ как у оперированных ранее пациенток с эндометриозом ($2,5 \pm 2,5$ нг/мл; ОШ 1.21; 95% ДИ [- 1.79, - 0.62]), так и пациенток с эндометриозом без предшествующих оперативных вмешательств ($2,5 \pm 2,2$ нг/мл; ОШ 1.11; 95% ДИ [- 1.68, - 0.54]) в сравнении с контролем ($3,6 \pm 3,0$ нг/мл). Средний исходный уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) был статистически значимо выше у больных эндометриозом с предшествующей операцией ($8,6 \pm 4,3$ мМЕ/мл; ОШ 1,37 [95% ДИ 0,39, 2,34] и без операции ($8,4 \pm 3,7$ мМЕ/мл; ОШ 0,96 [95% ДИ

0,04, 1,87]) по сравнению с контрольной группой ($7,3 \pm 2,2$ мМЕ/мл) [157].

Однако, Garavaglia E. и соавт. (Италия, 2017) в своем исследовании продемонстрировали статистически значимое снижение уровня АМГ при не оперированном эндометриозе в сравнении с контролем только у пациенток старше 36 лет ($p < 0,001$). Регрессионный анализ показал более быстрое снижение овариального резерва при наличии эндометриоза, независимо от локализации очагов, в сравнении с контролем ($p < 0,001$). Число примордиальных фолликулов в биоптатах здоровой ткани яичника имело прямую корреляцию с уровнем сывороточного АМГ как в основной, так и в контрольной группах, что говорит о надежности применения АМГ в качестве маркера овариального резерва ($p = 0,04$) [99].

Недавнее исследование Pedachenko N. и соавт. (2021), включившее 149 пациенток с бесплодием, у 72 из которых оно было ассоциировано с эндометриозом, продемонстрировало значимое снижение исходного уровня АМГ у бесплодных пациенток с эндометриозом ($2,8 \pm 1,9$ нг /мл) по сравнению с бесплодными пациентками без эндометриоза ($3,5 \pm 1,8$ нг / мл), $p = 0,018$. При этом концентрация АМГ была ниже у женщин с эндометриомами яичников ($2,2 \pm 1,2$ нг/мл), чем у женщин с глубоким инфильтративным эндометриозом ($2,9 \pm 2,0$ нг/мл). Не было различий в уровнях эстрадиола между группами [150].

1.2. Роль регуляторов апоптоза и ангиогенеза в изменении овариального резерва при эндометриозе

Механизм снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе до настоящего времени не установлен. Учитывая, что эндометриоз является пролиферативным заболеванием, характерными чертами которого являются способность к инфильтративному росту, отсутствие выраженной капсулы вокруг эндометриоидного очага, прорастание в соседние органы, данное заболевание рассматривают как переходную форму от доброкачественного к злокачественному. Поэтому в последние годы активно изучаются механизмы канцерогенеза, в частности снижение способности к апоптозу и неоангиогенез,

при эндометриозе, а также их влияние на овариальный резерв [101, 151, 178, 179].

Одним из ключевых генов-супрессоров опухолевого роста является ген TP53, функция которого направлена на ограничение вероятности возникновения генетически нестабильных клеток. Белок p53 осуществляет регуляцию широкого спектра клеточных процессов, устраняющих потенциально опасные в плане злокачественной трансформации клетки. TP53 является транскрипционным фактором свыше 300 генов, отвечающих за активацию таких жизненно важных процессов, как репликация, репарация ДНК, апоптоз, антиоксидантная защита и др. В человеческих популяциях активность белка p53 в значительной степени модифицирована генетическим полиморфизмом, наиболее значимым является точечная замена гуанина на цитозин в 72-м кодоне 4-го экзона (Ex4+119G>C, Arg72Pro, rs 1042522), при этом G и C аллели кодируют различающиеся по биохимическим и физиологическим свойствам белки, обладающие разной эффективностью в поддержании генетического гомеостаза клетки в условиях влияния генотоксических факторов [121].

Многочисленные исследования подтверждают ассоциацию полиморфизма Arg72Pro гена TP53 с риском развития рака молочной железы, а также рака эндометрия [92]. Исследования полиморфизмов гена TP53 нашли свое широкое применение в области онкологии и взаимосвязь между полиморфизмами данного гена и риском развития эндометриоза на сегодняшний день остается спорной [187].

J. Li и соавт. (2015) в проведенном метаанализе, включившем 14 исследований из восьми стран, выявили положительную связь полиморфизма TP53 Arg72Pro (rs1042522) с риском развития эндометриоза, особенно среди азиатской популяции (в доминантной модели ОШ=0,746 (95% ДИ 0,585; 0,952), в рецессивной модели ОШ=0,650 (95% ДИ 0,510; 0,829); при аллельном анализе ОШ=0,762 (95% ДИ 0,654; 0,888) [133].

Yan Y. и соавт. (2015) в метаанализе, включившем 15 исследований «случай-контроль», также подтвердили, что носительство полиморфизма Arg72Pro гена TP53 повышает риск развития эндометриоза [187].

Vagnini LD. и соавт. (2015) в исследовании на 605 пациентках репродуктивного возраста с бесплодием установили, что носительство полиморфизма rs4648551 A>G гена TP73, кодирующего изоформу p73 белка p53, ассоциировано со снижением овариального резерва в виде уменьшения уровня АМГ в крови, а также количества антральных фолликулов по данным УЗИ [177]. В более позднем исследовании эта же группа авторов установила, что помимо полиморфизмов гена TP73, с риском низкого овариального резерва ассоциированы и полиморфизмы генов TP53, MMP9 и MTHFR [176].

Abdalla Ribeiro NS и соавт. (Бразилия, 2014) в своем исследовании показали положительную экспрессию антиапоптотического фактора Bcl-2 в 100% биоптатов ректосигмоидного отдела кишечника и 97,5% крестцово-маточных связок, полученных при лапароскопии у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом. Напротив, экспрессия проапоптотического фактора BAX была нулевой в биоптатах ректосигмоидного отдела кишечника и эндометрия, и определялась лишь в 2,5% образцов крестцово-маточных связок [60].

Исследования последних лет также демонстрируют повышение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 и снижение экспрессии проапоптотических белков BAX (Bcl-2-ассоциированного X-белка) и p53, а также кодирующих их генов в стромальной и железистой ткани эндометриоидных очагов [90, 94, 156, 159].

В то же время, Di Nisio V. и соавт. (Италия, 2019) обнаружили повышенный уровень проапоптотических маркеров (p53, транскрипционного фактора NFκB и каспазы 8) в корковой ткани яичников, окружающей эндометриоидные кисты, по сравнению с контрольными яичниками [91].

Chen L. и соавт. (Китай, 2021) в исследовании, включившем 60 пациенток с бесплодием, в том числе 30 с эндометриоз-ассоциированным, изучали механизмы влияния фолликулярной жидкости на апоптоз гранулезных клеток. Были выявлены значимые различия уровня экспрессии пяти белков-регуляторов апоптоза (Bcl-2, BAX, CASP3, CASP9 и p53) между фолликулярной жидкостью

пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием и пациенток контрольной группы с преобладанием проапоптотических факторов при эндометриозе [81].

Zhou S. и соавт. (Китай, 2021) на мышинной модели продемонстрировали значимую роль апоптотического сигнального пути p53-BAH-каспаза-3 в старении яичников. Они показали, что ингибирование фосфатазы WIP1, экспрессия которой снижается с возрастом, ускоряет атрезию примордиальных фолликулов путем активации пути p53-BAH-каспаза-3 [194]. В свою очередь, ингибирование гомологов белка p53 защищает функцию яичников, подавляя апоптотические пути, запускаемые противоопухолевой терапией, в частности, циклофосфамидом [75, 122].

Недавно разработанный Kawamura K. и соавт. метод *in vitro* активации первичных фолликулов у пациенток с первичной недостаточностью яичников привлек внимание к роли антиапоптотического киназного сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в регуляции овариального резерва. Это один из универсальных внутриклеточных сигнальных путей, характерных для большинства клеток человека, который отвечает за уход от апоптоза, рост и пролиферацию клеток. Данный сигнальный путь играет значимую роль в прогрессировании эндометриоза, активируя пролиферацию и подавляя апоптоз эндометриоидных клеток [1, 96, 192].

Сигнальный путь фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) играет важную роль в активации примордиальных фолликулов, что подчеркивается в исследованиях на трансгенных животных. Kit-лиганд связывает свой родственный рецептор тирозинкиназы c-kit и стимулирует PI3K, что приводит к превращению липидного вторичного мессенджера PIP2 (фосфатидилинозитол (4, 5) бисфосфата) в PIP3 (фосфатидилинозитол (3, 4, 5) трифосфат). Затем PIP3 активирует АКТ (протеинкиназу В). Транслокация АКТ в ядро ингибирует активность транскрипционного фактора FOXO3. Фосфатаза и гомолог тензина (PTEN) негативно регулируют этот путь путем дефосфорилирования PIP3 в PIP2. Мишень рапамицина млекопитающих (mTOR) является каталитической

субъединицей двух структурно различных комплексов, mTORC1 и mTORC2. Чувствительный к рапамицину mTORC1 положительно регулирует рост и пролиферацию клеток [155, 169].

В исследовании Zhang и соавт. (Швеция, 2014) использовались три генетически модифицированные мышинные модели, чтобы понять роль отдельных генов в активации примордиальных фолликулов. Было продемонстрировано, что делеция TSC1, гена-ингибитора mTOR, в клетках гранулезы приводит к глобальной активации всех спящих фолликулов, тогда как делеция гена RPTOR, важного для передачи сигналов mTOR в клетках гранулезы, связана с блокировкой развития фолликулов. Мыши-мутанты по гену TSC1 показали увеличение экспрессии лиганда KIT в клетках гранулезы, который воздействуя на его рецептор KIT в ооцитах, стимулирует передачу сигналов PI3K и инициирует активацию фолликулов. В «пробужденных» ооцитах секреция ооцит-специфических факторов роста (GDF9 и BMP15) дополнительно активирует рецепторные серин-киназы и нижестоящие SMAD-белки в окружающих клетках гранулезы, что приводит к их росту и пролиферации. Интересно, что у мышей с двойными мутациями генов TSC1 и KIT происходила тотальная активация фолликулов, что подчеркивает важную роль передачи сигналов PI3K/AKT в активации фолликулов [193].

В своем исследовании Takeuchi A. и соавт. (Япония, 2019) оценивали гистологическую характеристику яичников, а также экспрессию Foxo3, PTEN, pmTOR и pAkt в примордиальных фолликулах на мышинной модели эндометриоза и у пациенток с эндометриозом методом иммуногистохимии. Как в мышинной модели, так и у пациенток с эндометриозом доля примордиальных фолликулов была снижена, а доля первичных, вторичных, антральных и растущих фолликулов была увеличена по сравнению с контролем. При этом было продемонстрировано, что при эндометриозе происходит активация сигнального PI3K/Akt/mTOR. На мышинной модели показано, что введение AS101, ингибитора сигнального пути PI3K/Akt/mTOR, восстанавливало долю примордиальных фолликулов при эндометриозе до уровня контрольной группы [170].

Касап Т. и соавт. (Турция, 2017) также на мышинной модели продемонстрировали уменьшение эндометриодидных очагов при введении эверолимуса, являющегося ингибитором mTOR [117].

Данные результаты свидетельствуют о значительной роли активированного при эндометриозе сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в преждевременном истощении пула примордиальных фолликулов и снижении овариального резерва у пациенток с эндометриозом, а медикаментозное ингибирование пути PI3K/Akt/mTOR может быть перспективным в лечении эндометриоза [73, 107, 136, 173].

Более того, активация PI3K в перинатальном периоде в ооцитах трансгенных мышей приводит к нарушению координации между ростом ооцитов и клеток гранулезы, что проявляется ановуляцией. Отсутствие овуляции, вероятно, является результатом эндокринных нарушений вследствие нерегулируемого роста фолликулов [123].

Хотя механизм, с помощью которого активация PI3K/Akt/mTOR вызывает повреждение ДНК в ооцитах, не выяснен, ускоренный рост первичных фолликулов был ассоциирован со снижением синтеза эстрадиола, что свидетельствует о нарушении функции гранулезных клеток [102].

Таким образом, быстрый рост фолликулов может быть обусловлен не только повреждением яйцеклетки внутри фолликула, но и нарушением взаимоотношений соматических клеток, приводящим к несогласованному росту ооцитов и клеток гранулезы [138].

Daniela Madanes и соавт. (Аргентина, 2020) в своем исследовании подчеркивают важность активации сигнального пути PI3K/Akt/mTOR на ранних стадиях эндометриоза. Исследование выявило повышенную экспрессию PI3K в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с эндометриозом, а также снижение экспрессии PTEN и повышение уровня фосфорилирования АКТ по сравнению с контрольным эндометрием. Как эутопический, так и эктопический эндометрий у пациенток с I-II стадией эндометриоза выражал значительное снижение уровня PTEN по сравнению с соответствующим эндометрием у

пациенток со III-IV стадией заболевания [137].

Исследования мутаций гена PIK3CA, кодирующего каталитическую субъединицу фермента фосфатидилинозитол-3-киназы, нашли свое широкое применение в области онкологии и на сегодняшний день мало изучена роль мутаций данного гена при эндометриозе. Описана роль мутаций гена PIK3CA в патогенезе рака молочной железы, эндометрия, шейки матки, толстого кишечника, рака легкого, а также рака яичников [64, 65, 97, 144].

Несмотря на то, что эндометриоз является доброкачественным заболеванием, имея общие патогенетические аспекты с онкологическими заболеваниями, он является предшественником светлоклеточного и эндометриоидного рака яичников. Атипичный эндометриоз яичников перерождается в эндометриоидную или светлоклеточную карциному в 15–32% случаев. При этом, на мышинной модели продемонстрировано, что инактивация генов-супрессоров опухолей, таких как PTEN и PIK3CA, активируют более раннее злокачественное преобразование эндометриоза. Мутации в экзонах 9 и 20 гена PIK3CA выявляются в 20% эндометриоидных и светлоклеточных карцином яичников и являются неблагоприятным прогностическим фактором [89, 184].

В свою очередь, на клеточной культуре продемонстрировано, что ВКМ120, ингибитор PI3K, может рассматриваться как эффективный метод лечения рака яичников [181, 182]. В настоящее время рассматривается вопрос об интеграции панели секвенирования нового поколения в стандартное клиническое обследование пациенток с раком яичников для подбора оптимальной терапии [130].

В последние годы появляются публикации исследований роли мутаций онкогенов в патогенезе неонкологических заболеваний, в том числе эндометриоза [62, 63].

Kazuaki Suda и соавт. (Япония, 2018, 2019) в двух многоцентровых ретроспективных исследованиях, включивших 118 образцов ткани эндометриоза яичников и 92 образца ткани нормального эндометрия, продемонстрировали схожесть мутационных профилей парных стромальных и эпителиальных клеток в

эндометриодной ткани и нормальной эндометрии, предполагая независимое друг от друга происхождение эпителиальных и стромальных клеток как в нормальной эндометрии, так и в ткани эндометриомы яичников. При этом, частота мутантных аллелей онкогенов, том числе мутаций гена PIK3CA, была достоверно выше в эпителиальных клетках эндометриом яичников ($P=6,0 \times 10^{-11}$) и нормальной эндометрии ($P=1,4 \times 10^{-7}$), по сравнению со стромальными клетками тех же локализаций. Значительное увеличение частоты мутаций генов, ассоциированных с раком, в эндометриодном эпителии предполагает ретроградный поток клеток эндометрия, уже имеющих ассоциированные с раком мутации, что приводит к развитию эндометриоза [166, 167, 168].

Yang Zou и соав. (Китай, 2018), идентифицировали в общей сложности четыре соматические мутации в трех из 101 образца эндометриомы яичника (4%, 4/101), включая KRAS p.G12V, PPP2R1A p.S256F и две нонсенс-мутации ARID1A (p.Q403 и p.G1926); в то время как в остальных 7 генах (BRAF, NRAS, HRAS, ERK1, ERK2, PTEN и PIK3CA) мутации не были выявлены. Кроме того, не было выявлено мутаций ни в одном из 10 генов ни в эндометрии пациенток без эндометриоза (n=85), ни в здоровой ткани яичника пациенток с эндометриозом (n=62) [195].

V. Лас и соавт. (2019) в многоцентровом ретроспективном исследовании определяли наличие мутаций онкогенов, задействованных в сигнальных путях MAPK/RAS или PI3K-Akt-mTOR, в тканях очагов послеоперационного эндометриоза передней брюшной стенки (n=40) и очагов глубокого инфильтративного эндометриоза (n=36) с применением секвенирования нового поколения, капельной ПЦР и иммуногистохимического анализа. В целом, соматические мутации онкогенов были выявлены в 11 из 40 (27,5%) случаев послеоперационного эндометриоза и в 13 из 36 (36,1%) глубокого инфильтративного эндометриоза, включая точечные мутации в KRAS, ERBB2, PIK3CA и CTNNB1. Не было выявлено статистически значимых различий в частоте обнаруживаемых соматических мутаций между послеоперационным и глубоким инфильтративным эндометриозом ($P>0,05$) [127].

Michael S Anglesio и соавт. (2019) проводили секвенирование экзома на наличие соматических мутаций у пациенток с инфильтративным эндометриозом. Секвенирование экзома выявило соматические мутации у 19 из 24 пациентов (79%). У пяти пациенток имелись известные мутации онкогенов ARID1A, PIK3CA, KRAS или PPP2R1A [67].

Изучение мутаций генов-регуляторов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом может помочь в поиске причин снижения овариального резерва у данной категории пациенток.

Помимо снижения способности к апоптозу, общим в патогенезе эндометриоза и злокачественных новообразований является активация неоангиогенеза. Поэтому в последние годы активно изучается роль сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), как ключевого регулятора ангиогенеза, в развитии эндометриоза. Исследования последних лет демонстрируют повышенное содержание сосудистого эндотелиального фактора роста в перитонеальной жидкости и эктопическом эндометрии больных эндометриозом [74, 132].

Более того, уровень экспрессии VEGF в эктопическом и эутопическом эндометрии, а также в сыворотке крови у пациенток с эндометриозом напрямую коррелирует со стадией заболевания [171]. Помимо повышения уровня самого сосудисто-эндотелиального фактора роста, в эутопическом и эктопическом эндометрии пациенток с эндометриозом определяется повышенная экспрессия его растворимого fms-подобного рецептора тирозинкиназы 1 (flt-1 или VEGFR-1) [162].

Рецептор VEGFR-1 (flt-1) является высокоаффинным рецептором тирозинкиназы для VEGF, при этом биологическая роль VEGFR-1 очень сложна. Несмотря на то, что VEGFR-1 взаимодействует с лигандом с наивысшей аффинностью, предполагают, что он функционирует главным образом в качестве ловушки для VEGF-A, ингибируя VEGF-опосредованную сигнализацию. Однако, в последние годы описаны новые функции рецептора VEGFR-1, в частности, показана позитивная регуляция ангиогенеза через активацию протеиназ и

экспрессию факторов роста, а также участие в опухолевой прогрессии путем усиления клеточной миграции и инвазии [30].

В отличие от VEGF-A, который воздействует в основном через рецептор VEGFR-2, сосудисто-эндотелиальный фактор роста В (VEGF-B) и плацентарный фактор роста (PlGF) связываются и активируются только через рецептор VEGFR-1. Первоначальные исследования о VEGF-B, как члене семейства VEGF, были сосредоточены на его роли в ангиогенезе, но позже установили, что VEGF-B напрямую не участвует в неоангиогенезе как в нормальных условиях, так и при сверхэкспрессии. Доказано, что VEGF-B отвечает за защиту клеток от апоптоза, способствуя росту и инвазии тканей [129].

Mingfa Ling и соавт. (Китай, 2021) продемонстрировали, что VEGF-B оказывает пролиферативную активность через сигнальный путь VEGFR1-PI3K/Akt/mTOR. Таким образом, активация рецептора VEGFR1 способна блокировать апоптоз через запуск антиапоптотического сигнального пути PI3K/Akt/mTOR [134].

Активируемая плацентарным фактором роста (PlGF) внутриклеточная передача сигнала может участвовать в хемотаксисе моноцитов, которые в свою очередь также активируют пролиферацию и ангиогенез. У пациенток с эндометриозом обнаружена значимая ассоциация между полиморфизмом rs2268613 в гене PLGF и уровнем PLGF в плазме крови [180]. Kyoko Hattori и соавт. (Япония, 2020) на мышинной модели показали, что активация VEGFR1 стимулирует рост эндометриоидных имплантов и усиление лимфангиогенеза путем опосредованной стимуляции VEGF-C и VEGF-D [106].

Ранее Kazuki Sekiguchi и соавт. (Япония, 2019) также на мышинной модели продемонстрировали подавление роста эндометриоидных очагов путем блокирования рецепторов VEGFR1, что доказывает значимую роль передачи сигналов через VEGFR1 в прогрессировании эндометриоза [162].

При этом исследования полиморфных вариантов гена VEGF при эндометриозе имеют противоречивые результаты [141]. Cardoso JV. и соавт. (2017) в исследовании с участием 293 пациенток с эндометриозом и 223

контрольных пациенток продемонстрировали положительную корреляцию между однонуклеотидными заменами -2578 C>A и -1154G>A гена VEGF и риском развития эндометриоза. При этом полиморфизмы VEGF +405G>C и VEGFR2 1192 C>T были ассоциированы со снижением риска развития заболевания. Комбинированный анализ генотипов VEGF-VEGFR2 выявил роль межгенных взаимодействий в предрасположенности к эндометриозу [78].

В свою очередь, Rashidi ВН. И соавт. (2019) в исследовании, включившем 100 пациенток с эндометриозом и 200 пациенток контрольной группы, не выявили ассоциации полиморфизмов -2578 А/С и +936 С/Т гена VEGF с риском развития эндометриоза. Также авторы не обнаружили связи между экспрессией микро-РНК VEGF и риском развития данного заболевания [154].

Позже Pergialiotis V. и соавт. (2020) в метаанализе, основанном на 20 исследованиях, также не выявили влияния однонуклеотидных полиморфизмов -460С/Т, +405G/С, +936С/Т, -2578А/С и-1154G/А гена VEGF на риск развития и тяжесть течения эндометриоза [152]. Противоречивость данных, полученных разными авторами, диктует необходимость дальнейшего изучения роли полиморфизмов гена VEGF в развитии эндометриоза, а также их влиянии на овариальный резерв при данном заболевании.

По данным недавних исследований обнаружена прямая корреляция между уровнем васкуляризации фолликулов по данным доплерометрии и качеством полученных ооцитов в программах ЭКО. Wu WB. и соавт. (Тайвань, 2021) в исследовании, включившем 185 пациенток, проходивших процедуру ЭКО в протоколе с антагонистами ГнРГ, установили, что интрафолликулярная концентрация VEGF в преовуляторных фолликулах отрицательно коррелирует с уровнем овариального резерва и скоростью созревания яйцеклеток, и положительно коррелирует с базальным сывороточным уровнем ФСГ. Повышенная концентрация интрафолликулярного VEGF в преовуляторных фолликулах у пациенток с низким овариальным резервом может возникать компенсаторно в ответ на гипоксию [185].

В своем исследовании Liu P. и соавт. (2020) продемонстрировали, что

пациентки на ранних стадиях преждевременной недостаточности яичников имеют измененный цитокиновый профиль, характеризующийся повышением хемокинов и факторов роста, в том числе сосудистого эндотелиального фактора роста [135].

Полученные данные говорят о важной роли сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF в регуляции овариального ангиогенеза и фолликулярной оксигенации. Нарушение данных процессов вследствие изменения экспрессии VEGF при эндометриозе может приводить к истощению овариального резерва.

1.3. Влияние хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза на состояние овариального резерва у женщин репродуктивного возраста

В современной литературе представлено множество исследований, в том числе метаанализов, относительно влияния цистэктомии при эндометриозах яичника на овариальный резерв, однако исследования по влиянию хирургического лечения инфильтративных форм эндометриоза на овариальный резерв крайне ограничены. В последние годы ученые сходятся во мнении, что хирургическое удаление эндометриоидных кист яичника вызывает стойкое снижение овариального резерва, особенно при выполнении двусторонней цистэктомии [51, 52, 85, 190].

Метаанализ, проведенный Younis JS и соавт. (Израиль, 2019), продемонстрировал достоверное стойкое снижение уровня АМГ в сыворотке крови после хирургического лечения эндометриом яичников – на 39,5% от исходного уровня при односторонней кистэктомии и на 57,0% при двусторонней кистэктомии [190].

При этом Saito A. и соавт. (Япония, 2016) в своем исследовании продемонстрировали, что вовлечение мезосальпинкса в зону оперативного вмешательства при удалении эндометриомы сопровождалось более значимым снижением овариального резерва в раннем послеоперационном периоде и медленным его восстановлением в позднем. Такие результаты авторы связывают с нарушением кровоснабжения яичника после рассечения мезосальпинкса [160].

В связи с этим в последние годы ставится под сомнение классическая недоказанная догма о том, что эндометриома яичника должна быть удалена у всех бесплодных женщин до проведения ЭКО. Все чаще пациенткам с эндометриомами яичников небольших размеров рекомендуется проведение процедуры ЭКО до хирургического лечения, чтобы сократить время до наступления беременности, а также избежать возможных хирургических осложнений [23, 32]. Потенциальными механизмами снижения овариального резерва при хирургическом удалении эндометриом считают случайное удаление здоровой ткани яичника, прилежащей к стенке кисты, а также локальное воспаление и нарушение васкуляризации, связанные с электрохирургической коагуляцией [114].

Идет активный поиск путей максимального сохранения овариального резерва при удалении эндометриом яичников. Представлены новые хирургические методики, направленные на достижение надежного гемостаза в области ложа кисты при выполнении кистэктомии с минимальным влиянием на прилежащую здоровую ткань яичника. В качестве альтернативы биполярной коагуляции ложа кисты изучаются ушивание яичника, использование гемостатических препаратов на основе фибрина, лазерный гемостаз, аргоноплазменная коагуляция ложа кисты, инъекции вазопрессина, склеротерапия [21, 68, 82, 88, 145, 163, 186].

Вместо традиционного вылущивания эндометриоидной кисты также предлагаются такие методики, как пункция эндометриомы с эндокоагуляцией капсулы и одномоментная лазерная вапоризация эндометриомы [77, 100].

В исследовании Кузьминой Н.С. и соавт. (2018), включившем 172 пациентки с эндометриомами яичников выявлено, что на степень снижения овариального резерва и частоту наступления беременности после выполнения цистэктомии эндометриомы яичника влияет выбор послеоперационной гормонотерапии. Наименьшее снижение уровня АМГ в сыворотке крови после хирургического лечения отмечено у пациенток, получавших агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона или гестагены,

наибольшее у пациенток, получавших комбинированные оральные контрацептивы либо не получавших гормономодулирующего лечения. Наибольшая частота наступления беременности после хирургического лечения также отмечена у пациенток, получавших агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона в течение 4-6 месяцев после операции, наименьшая – у пациенток без послеоперационного гормономодулирующего лечения [33].

Авторы Кокрейновского обзора, включившего 11 рандомизированных клинических исследований и 955 пациенток, также делают вывод о том, что хирургическое вмешательство при эндометриозе в сочетании с послеоперационной медикаментозной терапией, увеличивает частоту наступления беременности по сравнению с хирургическим вмешательством в сочетании с плацебо или отсутствием медикаментозной терапии (ОР 1,19 (95% ДИ 1,02 -1,38), $p < 0,05$) [80].

Современная концепция лечения при инфильтративных формах эндометриоза основывается на необходимости выполнения хирургического этапа [1]. Однако влияние хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза на овариальный резерв в настоящее время остается малоизученным. До сих пор нет четкого понимания, каким образом оперативное вмешательство влияет на скомпрометированный при эндометриозе овариальный резерв. В связи с чем, в настоящее время нет согласия о необходимости хирургического лечения как терапии первой линии у пациенток с инфильтративным эндометриозом в сочетании с нарушением фертильности [44, 29, 55]. Вероятно, специалистам по всему миру еще предстоит определить какова лучшая стратегия ведения пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом в сочетании с бесплодием: оперативное лечение с последующим применением методов ВРТ либо первоначальное применение ЭКО без оперативного вмешательства?

Согласно руководству по эндометриозу французского национального колледжа акушерства и гинекологии (2018), ЭКО как терапия первой линии является хорошим вариантом в случае неоперированного глубокого инфильтративного эндометриоза в сочетании с бесплодием. Частота наступления

беременности (спонтанной или с использованием ВРТ) после оперативного лечения инфильтративных форм эндометриоза без колоректального поражения варьирует от 40 до 85%. После резекции колоректального эндометриоза частота наступления беременности составляет от 47 до 59%. Исследования, сравнивающие показатели беременности после ЭКО, независимо от того, предшествует ли этому хирургическое вмешательство или нет, противоречивы и не позволяют до настоящего времени сделать выводы о необходимости любого хирургического лечения глубоких поражений до применения методов ВРТ. В случае изменения параметров овариального резерва (возраст, АМГ, количество антральных фолликулов) нет данных о преимуществе оперативного лечения либо применения методов ЭКО в качестве терапии первой линии. Применение ЭКО при глубоком инфильтративном эндометриозе позволяет достичь удовлетворительных показателей частоты наступления беременности без значительного риска в отношении прогрессирования заболевания и процедуры извлечения ооцитов [140].

В исследовании Sarbazi F. и соавт. (Франция, 2021) продемонстрировано значимое снижение уровня АМГ в сыворотке крови с $2,80 \pm 1,86$ нг/мл до $1,76 \pm 1,40$ нг/мл после хирургического лечения эндометриоза III-IV стадии ($p < 0,001$). Из 55 пациенток с бесплодием 78,1% забеременели после операции, у 54,5% из них беременность наступила без применения методов ВРТ [161].

В исследовании Чупрынина В.Д. и соавт. (Россия, 2015), оценивались отдаленные результаты хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза у 52 пациенток различных возрастных групп. После проведенного оперативного лечения было отмечено восстановление репродуктивной функции у 14 (27%), а сохранение бесплодия у 12 (23%) пациенток. Беременность наступила у 21 женщины, роды – у 12 женщин [57].

Paulo H.M. Bianchi и соавт. (Бразилия, 2009) в проспективном когортном исследовании показали, что обширное лапароскопическое удаление глубокого инфильтративного эндометриоза значительно улучшило показатели ЭКО у пациенток с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом. Пациенткам,

перенесшим оперативное лечение глубокого инфилтративного эндометриоза, требовались меньшие дозы рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона, необходимые для индукции овуляции по сравнению с пациентками, страдающими эндометриозом без предшествующего оперативного лечения (2380 ± 911 против 2542 ± 1012 МЕ, $p=0,01$). Количество извлеченных ооцитов (10 ± 5 против 9 ± 5 , $p=0,04$) и частота наступления клинической беременности (24% против 41%, $p=0,004$) были выше у пациенток с перенесенным хирургическим лечением эндометриоза по сравнению с пациентками без предшествующей операции [149].

Напротив, Maignien С. и соавт. (Франция, 2020) в ретроспективном когортном исследовании продемонстрировали, что оперативное лечение эндометриоза в анамнезе может негативно влиять на результаты вспомогательных репродуктивных технологий. В исследование вошли 222 пациентки репродуктивного возраста с глубоким инфилтративным эндометриозом, которые прошли в общей сложности 440 циклов ВРТ. Первую когорту составили 155 пациенток с инфилтративным эндометриозом, имеющие в анамнезе оперативное лечение, во вторую когорту вошли 67 пациенток с эндометриозом без предшествующего оперативного лечения. Пациентки с предшествующей операцией по поводу эндометриоза имели более низкие показатели овариального резерва по сравнению со второй группой: более высокий уровень ФСГ на третий день менструального цикла ($7,8 \pm 2,0$ МЕ/л против $6,3 \pm 2,0$ МЕ/л, соответственно, $p=0,014$), меньшее количество антральных фолликулов ($9,9 \pm 5,4$ против $13,3 \pm 7,8$, соответственно, $p < 0,001$), и более низкие уровни АМГ ($2,5 \pm 2,4$ нг/мл против $3,4 \pm 2,6$ нг/мл, соответственно, $p=0,007$). Частота наступления клинической беременности (21,7% по сравнению с 40,5%, $p < 0,001$) и показатели живорождения (15,7% по сравнению с 29,8%, $p=0,001$) также были значительно ниже у женщин, которые ранее перенесли операцию по поводу эндометриоза по сравнению с больными эндометриозом без предшествующего оперативного лечения. Наконец, совокупный коэффициент живорождения составил 26% после четырех циклов ВРТ в первой группе пациенток и 51,3% после четырех циклов ВРТ у пациенток

второй группы ($p < 0,001$) [139].

В свою очередь, Stochino-Loi E и соавт. (Италия, 2017) в ретроспективном сравнительном исследовании показали, что вероятность послеоперационной беременности была сопоставима у женщин с низким (< 2 нг/мл) и нормальным (≥ 2 нг/мл) уровнем АМГ, которым проводилось хирургическое лечение эндометриоза III- IV стадии. Вероятность наступления беременности через 12, 24 и 36 месяцев после операции была сопоставима между группами, составив в целом 73,9% у пациенток с исходно низким и 74,6% у пациенток с нормальным уровнем АМГ, $p > 0,05$. На основании полученных результатов авторы предполагают, что хирургическое лечение может быть предложено молодым пациенткам с тяжелым эндометриозом и сниженным овариальным резервом, планирующих беременность. Однако, небольшой объем выборки ($n=180$), возможно, не позволил выявить различия в показателях беременности между двумя группами [164].

Saavalainen L. и соавт. (Финляндия, 2016) в ретроспективном когортном исследовании изучали влияние хирургического лечения инфилтративного эндометриоза мочевыводящих путей на фертильность и частоту послеоперационных рецидивов у 53 пациенток репродуктивного возраста. 53% пациенток планировали беременность после оперативного лечения. У 64% пациенток, планирующих беременность, наступила беременность после оперативного лечения. Из них 27 % беременностей были спонтанными, в то время как 73 % беременностей наступили в результате ВРТ, в том числе с использованием донорских ооцитов. Среднее время от оперативного лечения эндометриоза мочевыводящих путей до рождения первого ребенка составило $2,5 \pm 1,4$ года [158].

При колоректальном инфилтративном эндометриозе хирургическое удаление очагов инвазивного эндометриоза может повысить вероятность наступления спонтанной беременности и улучшить результаты ЭКО, а также повысить частоту живорождения у пациенток, перенесших полное удаление эндометриоидных инфилтратов. Частота наступления беременности после

хирургического лечения у таких больных составляет в среднем 40—60% [76, 113].

Важное значение в лечении тяжелого инфильтративного эндометриоза и связанного с ним бесплодия имеет междисциплинарный и персонализированный подход с учетом различных параметров (возраста пациентки, локализации и степени инфильтрации эндометриоидных очагов, наличия или отсутствия яичниковой недостаточности и других факторов, связанных с бесплодием) [103].

В руководстве Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) по эндометриозу говорится, что хотя не существует убедительных доказательств того, что оперативная лапароскопия при глубоком инфильтративном эндометриозе улучшает фертильность, оперативная лапароскопия может представлять собой вариант лечения у пациенток с симптомами, желающих забеременеть. У пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом решение предложить хирургическое иссечение очагов перед ВРТ должно основываться главным образом на наличии и выраженности болевого синдрома и предпочтениях пациентки, поскольку его эффективность в отношении репродуктивных исходов неясна из-за отсутствия рандомизированных исследований. У бесплодных женщин, страдающих глубоким инфильтративным эндометриозом, с клиническими симптомами и неудачными попытками ВРТ в анамнезе, может быть рассмотрено хирургическое удаление поражений [95].

Собо А. и соавт. (Испания, 2020) в крупном ретроспективном исследовании описали результаты применения витрифицированных ооцитов с целью сохранения фертильности у 485 пациенток с эндометриомами яичников не менее 1 см и тяжестью эндометриоза по классификации R-AFC не менее 3. Результаты исследования показали, что выживаемость ооцитов после размораживания составила 83,2%, а кумулятивный показатель живорождения - 46,4%. Полученные данные позволили сделать вывод, что применение криоконсервации ооцитов является эффективным методом сохранения фертильности при эндометриозе [84].

Согласно руководству ESHRE по эндометриозу, в случае тяжелого

эндометриоза яичников клиницисты должны обсудить с пациенткой плюсы и минусы применения витрификации ооцитов для сохранения фертильности.

Несмотря на то, что исследование Собо А. демонстрирует эффективность сохранения фертильности с применением криоконсервации ооцитов у женщин с эндометриозом, многие вопросы, такие как экономическая эффективность и безопасность, остаются нерешенными. В настоящее время имеется недостаточно данных для того, чтобы применять банкинг ооцитов у всех женщин с эндометриозом, при этом отсутствуют четкие критерии отбора пациенток для применения методов криоконсервации ооцитов при эндометриозе [87, 95].

Пациенткам, нуждающимся в хирургическом лечении эндометриоза, которым не может быть выполнен забор ооцитов на дооперационном этапе, например, при наличии гигантского образования яичника, а также при сомнениях в его доброкачественности, может быть предложена витрификация овариальной ткани, полученной в ходе выполнения лапароскопии [93, 105, 189].

Для выбора оптимальной тактики ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом и решения вопроса о необходимости применения методов ВРТ, в том числе банкнга ооцитов, до оперативного лечения, необходимо понимать, каким образом хирургическое иссечение эндометриоидных очагов повлияет на исходно скомпрометированный овариальный резерв. Для этого требуется поиск клинико-инструментальных, молекулярно-биологических и генетических предикторов снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста.

Резюме

В современной литературе представлены многочисленные исследования, демонстрирующие негативное влияние эндометриоидной кисты яичника и цистэктомии эндометриомы на овариальный резерв у пациенток репродуктивного возраста. Однако, подобные исследования по влиянию глубокого инфильтративного эндометриоза и его хирургического лечения на состояние овариального резерва весьма малочисленны.

Имеющиеся на сегодняшний день исследования демонстрируют значимое снижение овариального резерва, которое проявляется уменьшением уровня антимюллера гормона в крови и количества антральных фолликулов в яичниках, у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом как с наличием эндометриомы яичника, так и без эндометриоидного поражения яичников.

Механизм снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе, особенно у пациенток с интактными яичниками, до настоящего времени не установлен. В последние годы активно изучается влияние регуляторов апоптоза и ангиогенеза на развитие глубокого инфильтративного эндометриоза и изменение овариального резерва при нем.

Исследования последних лет демонстрируют значимую роль апоптотического сигнального пути p53-BAH-каспаза-3 в «старении» яичников. У пациенток с эндометриозом отмечается подавление данного сигнального пути в стромальной и железистой ткани эндометриоидных очагов, и его активация в корковой ткани яичников, что может лежать в основе снижения овариального резерва при данном заболевании. Помимо этого, исследования полиморфизмов генов-регуляторов данного сигнального пути показали, что носительство полиморфизма Arg72Pro гена *TP53* повышает риск развития эндометриоза, а также ассоциировано со снижением овариального резерва.

В свою очередь, активация антиапоптотического сигнального пути PI3K/AKT/mTOR при эндометриозе, приводит к преждевременному созреванию фолликулов и раннему их истощению, что может снижать овариальный резерв у пациенток с эндометриозом. Нарушение овариального ангиогенеза и фолликулярной оксигенации вследствие изменения экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора роста также рассматривается как один из механизмов снижения овариального резерва при эндометриозе.

Современная концепция лечения при инфильтративных формах эндометриоза основывается на необходимости выполнения хирургического этапа. Однако влияние хирургического лечения глубокого инфильтративного

эндометриоза на овариальный резерв остается малоизученным, в связи с чем в настоящее время нет согласия о необходимости хирургического лечения как терапии первой линии у пациенток с инфильтративным эндометриозом в сочетании с нарушением фертильности. У пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом решение предложить хирургическое иссечение очагов перед ВРТ должно основываться главным образом на наличии и выраженности болевого синдрома и предпочтениях пациентки, поскольку его эффективность в отношении репродуктивных исходов неясна из-за отсутствия рандомизированных исследований.

Несмотря на то, что недавние исследования демонстрирует эффективность сохранения фертильности с применением криоконсервации ооцитов либо витрификации овариальной ткани у женщин с эндометриозом, многие вопросы, такие как экономическая эффективность и безопасность, остаются нерешенными, а также отсутствуют четкие критерии отбора пациенток для применения данных методик.

Для выбора оптимальной тактики ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом и решения вопроса о необходимости применения методов ВРТ, в том числе банкинга ооцитов, до оперативного лечения, необходимо понимать, каким образом хирургическое лечение повлияет на исходно скомпрометированный овариальный резерв. Для этого требуется поиск клинико-инструментальных, молекулярно-биологических и генетических предикторов снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста. Маркеры дисрегуляции процессов апоптоза и ангиогенеза могут стать потенциальными предикторами послеоперационного снижения овариального резерва при эндометриозе.

Материалы главы 1 опубликованы в следующих работах:

1. Башмакова, Н.В. Роль средовых факторов в патогенезе бесплодия, ассоциированного с генитальным эндометриозом (обзор литературы) / Н.В.

- Башмакова, О.А. Мелкозерова, А.А. Михельсон, **Е.О. Окулова** // Проблемы репродукции. – 2019. – № 5. – С. 42-48.
2. Мелкозерова, О.А. Генетические и эпигенетические механизмы бесплодия, ассоциированного с генитальным эндометриозом / О.А. Мелкозерова, Н.В. Башмакова, **Е.О. Окулова** // Акушерство и гинекология. – 2019. - № 8. – С. 26-32.
 3. **Окулова, Е.О.** Влияние хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза на состояние овариального резерва женщин репродуктивного возраста (обзор литературы) / **Е.О. Окулова**, О.А. Мелкозерова, А.А. Михельсон, Т.А. Путилова, Д.В. Полянин // Лечение и профилактика. – 2020. – № 2. - С. 95-100.
 4. Михельсон, А.А. Выбор хирургических методов лечения эндометриоидных кист яичников с целью сохранения овариального резерва (обзор литературы) / А.А. Михельсон, М.И. Телякова, **Е.О. Окулова**, О.А. Мелкозерова // Проблемы репродукции. – 2020. – № 6. – С.57-64.
 5. **Окулова, Е.О.** Роль генетических и средовых факторов в патогенезе бесплодия, ассоциированного с генитальным эндометриозом / **Е.О. Окулова**, О.А. Мелкозерова // Малышевские чтения. Демографические вызовы современности в условиях пандемии COVID19: материалы VI научно-практической конференции акушеров-гинекологов УФО в дистанционном режиме. – Екатеринбург, 2020. – С.63-65.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и дизайн исследования

Настоящее исследование было проведено в период с 2019 по 2021 г. на базе гинекологического отделения ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – доктор медицинских наук, профессор Г.Б. Мальгина). Исследование одобрено локальным этическим комитетом учреждения согласно положениям Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации, принятой на 18-й Генеральной ассамблее Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association - WMA) в июне 1964 г (протокол №5 от 08.10.2019 г). Все пациентки были информированы об участии в исследовании и подписали письменное информированное согласие. У всех женщин, до начала включения в исследование было получено добровольное информированное согласие на обработку и использование биологического материала и персональных данных. Для решения поставленных в настоящей работе цели и задач были определены основные методологические подходы и сформирован дизайн исследования, представленный на рисунках 1 и 2.

В исследование было включено 120 женщин репродуктивного возраста.

Перед началом исследования все пациентки были скринированы для определения соответствия критериям включения и отсутствия критериев невключения в исследование.

Исследование включало два этапа.

Методология **первого этапа** исследования - проспективное когортное исследование. Целью первого этапа исследования явилась оценка влияния глубокого инфилтративного эндометриоза и его хирургического лечения на состояние овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста.

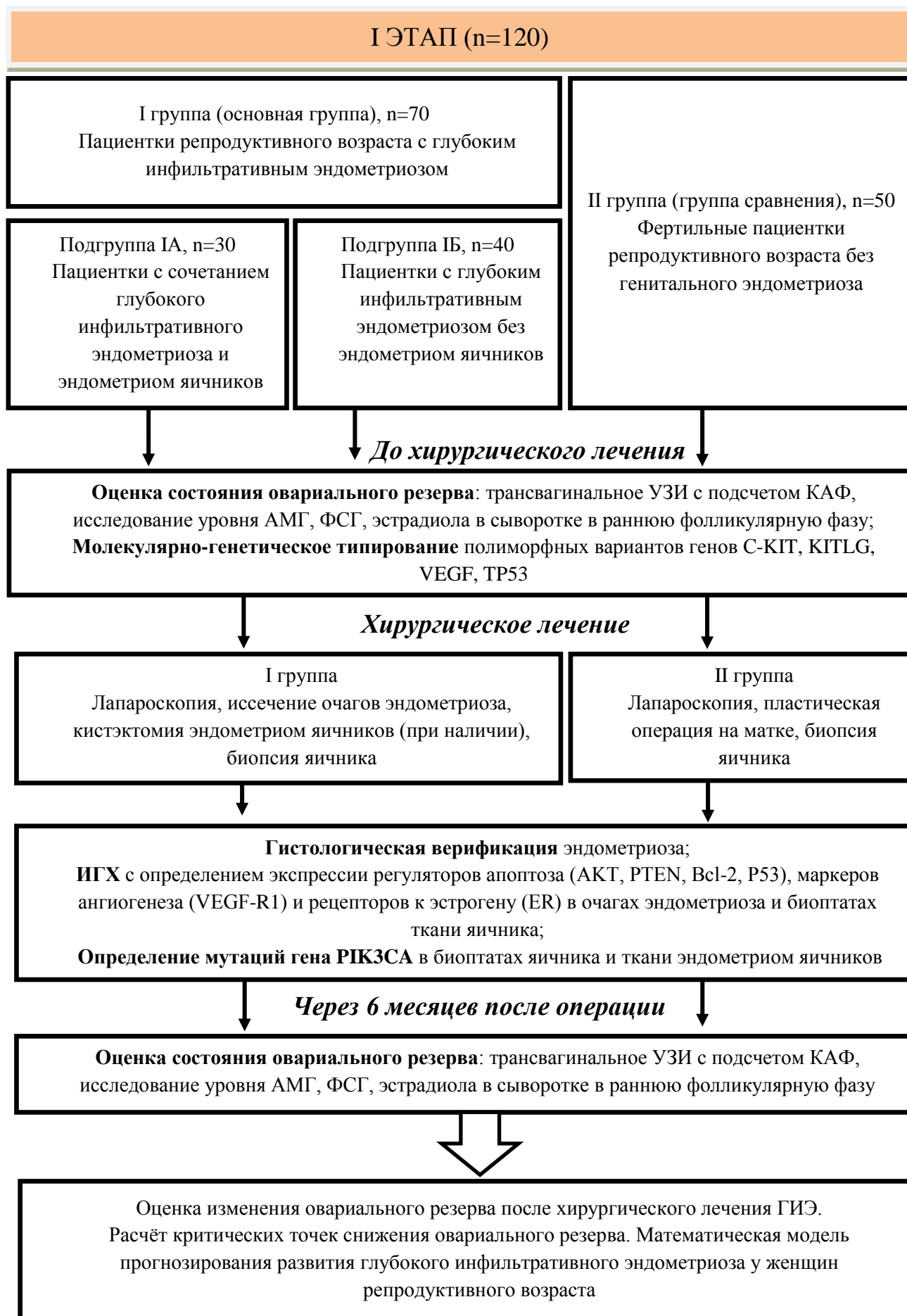


Рисунок 1 – Дизайн первого этапа исследования

Основную группу исследования составили 70 пациенток репродуктивного возраста, которым было выполнено хирургическое лечение глубокого инфильтративного эндометриоза. В зависимости от наличия эндометриоидного поражения яичников пациентки первой группы были разделены на две подгруппы:

Подгруппа IA (n=30) – пациентки с сочетанием глубокого инфильтративного эндометриоза и эндометриоидных кист яичников диаметром 3 см и более.

Подгруппа IB (n=40) – пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом без эндометриоидных кист яичников.

Группу сравнения составили 50 фертильных женщин без генитального эндометриоза, которым была выполнена пластическая операции на матке.

Методология **второго этапа** - исследование «случай-контроль» с соотношением числа контролей к случаю 1:1.

На **втором этапе** с целью поиска предикторов послеоперационного снижения овариального резерва пациентки, прооперированные по поводу глубокого инфильтративного эндометриоза, были разделены на две группы:

Первую группу (n=30) составили пациентки со статистически значимым снижением овариального резерва через 6 месяцев после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза, которым методом парных сочетаний были подобраны копи-пары из когорты пациенток без статистически значимого снижения овариального резерва через 6 месяцев после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза, составившие **вторую группу** исследования (n=30). Заданным критериям включения соответствовали 60 женщин из 70.



Рисунок 2 – Дизайн второго этапа исследования

Критерии включения в основную группу исследования на этапе скринирования:

1. Возраст 20-40 лет
2. Наличие глубокого инфильтративного эндометриоза (коды по МКБ-10 - N80.4, N80.5, N80.8)

3. Отсутствие в анамнезе указания на использование гормональных препаратов в течение последних 3 месяцев и более
4. Регулярный менструальный цикл в течение последних 3 месяцев и более
5. Информированное добровольное согласие пациентки или ее законного представителя на участие в исследовании

Критерии невключения в исследование:

1. Возраст менее 20 лет и старше 40 лет.
2. Тяжелая экстрагенитальная патология.
3. Онкологические заболевания.
4. Преждевременная недостаточность яичников.
5. Синдром поликистозных яичников.
6. Острые воспалительные заболевания органов малого таза.
7. Беременность.

Критерии исключения из исследования:

1. Беременность.
2. Аднексэктомия при настоящей операции.
3. Воспалительные осложнения после проведенного хирургического лечения.
4. Отказ пациентки от дальнейшего участия в исследовании на любом этапе.

Критерии включения пациенток в первую группу на втором этапе исследования:

1. Статистически значимое снижение уровня овариального резерва через 6 месяцев после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза.
2. Наличие копи-пары из числа пациенток без статистически значимого снижения уровня овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза, схожих по следующим параметрам:
 - возрасту,
 - исходному уровню АМГ в сыворотке крови,

- исходному количеству антральных фолликулов в яичниках по данным трансвагинального УЗИ,
- наличие эндометриомы яичника, ее размерам и латеральности.

Хирургическое лечение пациенткам основной группы выполнялось лапароскопическим доступом, на оборудованной стойке фирмы Karl Storz (GmbH, Германия) и заключалось в максимальном иссечении очагов глубокого инфильтративного эндометриоза и энуклеации эндометриоидных кист яичников при их наличии. Лапароскопию выполняли в условиях эндотрахеального наркоза по стандартной закрытой методике. Интраоперационно пациенткам обеих групп проводилась биопсия корковой ткани яичника.

Оперативное вмешательство проводилось в специально оборудованной операционной в отделении гинекологии ФГБУ НИИ ОММ (заведующая отделением – д.м.н. Михельсон А.А.). После опорожнения мочевого пузыря при горизонтальном положении больной на спине (в положении для литотомии) через разрез в области пупка в брюшную полость вводили иглу Вереша и с помощью инсуфлятора Endoflator (Karl Storz GmbH & Co., Германия) осуществляли наложение пневмоперитонеума с давлением в 12 мм.рт.ст. Для создания пневмоперитонеума использовался углекислый газ. После наложения пневмоперитонеума через тот же разрез вводили троакар диаметром 11мм (Karl Storz GmbH & Co., Германия). После извлечения стилета в гильзу троакара вводили лапароскоп Hopkins II (Karl Storz GmbH & Co., Германия), соединенный с источником света и эндовидеокамерой. Пациентку переводили в положение Тренделенбурга. Для вторичных проколов брюшной стенки использовали 5; 10 и 12 мм троакары с винтовой нарезкой (Vectec). Для выполнения эндоскопических операций использовали 5-мм и 10-мм механические инструменты: щипцы – биопсийные, зубчатые, атравматичные; ножницы – прямые, изогнутые; диссектор; инструменты для монополярной и биполярной коагуляции; иглодержатели; пушер для затягивания узлов.

Техника операции: все оперативные вмешательства начинались с выполнения диагностической лапароскопии, ревизии органов малого таза и

брюшной полости.

Интраоперационно определяли тяжесть эндометриоза по классификационной схеме Американского общества фертильности AFS/ASRM (R-AFS), которая подразумевает балльную оценку локализации и размеров эндометриозных очагов, а также выраженности спаечного процесса органов малого таза (рисунок 3) [66].

Поражение и локализация			Детализация поражения, баллы		
			< 1 см	1–3 см	> 3 см
Брюшина	поверхностный		1	2	4
	глубокий		2	4	6
Яичники	правый	поверхностный	1	2	4
		глубокий	4	16	20
	левый	поверхностный	1	2	4
		глубокий	4	16	20
Облитерация позадиматочного пространства			Частичная		Полная
			4		40
Спайки			< ¹ / ₃ запаяно	¹ / ₃ – ² / ₃ запаяно	> ² / ₃ запаяно
Яичники	правый	плечатые	1	2	4
		плотные	4	8	16
	левый	плечатые	1	2	4
		плотные	4	8	16
Трубы	правая	плечатые	1	2	4
		плотные	4*	8*	16
	левая	плечатые	1	2	4
		плотные	4*	8*	16

Примечание: * полностью запаянный фимбриальный отдел трубы оценивать как 16 баллов. Стадия I — 1–5, стадия II — 6–15, стадия III — 16–40, стадия IV — >40

Рисунок 3. Пересмотренная классификация эндометриоза Американского общества фертильности 1985 года.

На основании балльной оценки тяжести эндометриоза по классификации R-AFS, оценки функции маточных труб и яичников (рисунок 4), длительности бесплодия и анамнестических данных о предыдущих беременностях производился расчет индекса фертильности при эндометриозе (endometriosis fertility index — EFI, рисунок 5) [31, 61].

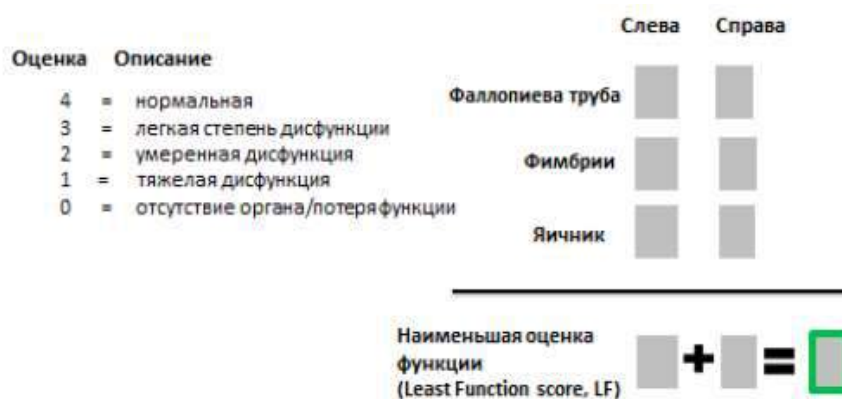


Рисунок 4. Расчет наименьшей функции (LF-score) маточных труб и яичников по заключению хирурга. Примечание. В случае отсутствия одного из яичников, для расчета LF-score нужно удвоить выбранный наименьший балл из другой колонки.

Анамнестические данные			Данные хирургического вмешательства		
Фактор	Определение	Баллы	Фактор	Определение	Баллы
Возраст	≤ 35 лет	2	LF-оценка	От 7 до 8	3
	От 36 до 39 лет	1		От 4 до 6	2
	≥ 40 лет	0		От 1 до 3	0
Длительность периода бесплодия	≤ 3 лет	2	AFS-классификация Оценка эндометриоза	Менее 16	1
	Более 3 лет	0		≥ 16	0
Предыдущие беременности	Наличие	1	AFS-классификация Полная оценка	Менее 71	1
	Отсутствие	0		≥ 71	0
Итог анамнестических данных:			Итог операционных данных:		

Индекс фертильности = +

Рисунок 5. Расчет индекса фертильности при эндометриозе

Для обеспечения хорошей визуализации позадиматочного пространства при обширных эндометриоидных инфильтратах и спаечных конгломератах малого таза во всех случаях после разделения висцеро-висцеральных, висцеро-париетальных спаек выполняли транспозицию яичников к париетальной брюшине подвздошных областей с помощью подвешивающего устройства T-Lift (Vectec). Мочеточники прослеживали под брюшиной, оценивали их взаимоотношение с границей эндометриоидного инфильтрата. При близком расположении их к инфильтрату рассекали париетальную брюшину в

неизменной зоне и выполняли диссекцию мочеточников до уровня маточных сосудов. Диссекцию тканей всегда начинали на 0,5–1,0 см латеральнее очага инфильтративного эндометриоза в зоне неизменной клетчатки малого таза. Иссечение очагов эндометриоза выполняли эндоскопическими ножницами в пределах неизменных тканей. При прорастании эндометриоидного инфильтрата в крестцово-маточные связки проводилась их резекция в пределах не вовлеченных в патологический процесс тканей после предварительной мобилизации очага. Иссечение очагов эндометриоза, прорастающих стенку влагалища, осуществляли монополярным электродом с применением режущего тока при условии натяжения тканей жестким зажимом. Образовавшийся дефект задней стенки влагалища ушивали со стороны брюшной полости непрерывным швом нитью викрил или монокрин 2-0. Пневмоперитонеум при этом поддерживался введенным во влагалище тампоном.

При поражении эндометриозом мочевого пузыря матку с помощью ретрактора переводили в положение ретрофлексио и вскрывали пузырно-маточную складку. При локализации инфильтрата в пределах серозного или серозно-мышечного слоя проводили «shaving» («сбривание») эндометриоидного инфильтрата со стенки мочевого пузыря с последующим наложением двухрядного викрилового шва (00): первый ряд – ушивание мышечной оболочки (детрузора), второй ряд – перитонизация серозным покровом. В случае вовлечения в процесс всех слоев стенки мочевого пузыря проводилась резекция пораженного участка. Целостность стенки мочевого пузыря восстанавливали однорядным швом с использованием самофиксирующейся монофиламентной нити V-Loc (Covidien, Швейцария). Герметичность швов контролировали введением раствора метиленового синего через пузырьный катетер.

При выполнении манипуляций на кишке, вовлеченной в эндометриоидный инфильтрат, использовался внутриматочный ретрактор и пластиковый внутрисветный кишечный ретрактор, позволяющие максимально визуализировать позадиматочное пространство. При вовлечении в патологический процесс только серозно-мышечного слоя кишки проводилась

иссечение очага без вскрытия просвета кишки («shaving»). Стенку кишки ушивали отдельными узловыми викриловыми швами (00).

При прорастании эндометриоза в просвет подвздошной кишки выполняли резекцию пораженного участка кишки с формированием илеоасцендоанастомоза «бок в бок» однорядным швом нитью полигликолид 3-0.

При распространенном поражении (более 3 см) толстой кишки с формированием клинически значимого стеноза после освобождения от мезоректума выполнялось удаление части кишечной трубки с помощью аппарата Эндо GIA-30 с последующим формированием компрессионного циркулярного толстокишечного анастомоза «конец в конец» с помощью циркулярного сшивающего аппарата.

После обширной резекции толстой кишки выводили разгрузочную временную трансверзостому или сигмостому в мини-лапаротомный разрез. При поражении эндометриозом червеобразного отростка выполняли аппендэктомию.

В случаях экстрагенитального эндометриоза передней брюшной стенки или промежности очаги эндометриоза были иссечены в пределах здоровых тканей.

При наличии эндометриоидных кист яичников проводилась цистэктомия с максимальной энуклеацией стенки кисты в пределах здоровой ткани яичника при помощи мягких атравматичных зажимов. Гемостаз ложа эндометриоидных кист проводили с использованием прецизионной биполярной коагуляции.

Всем пациенткам интраоперационно проводилась инцизионная биопсия коркового слоя здорового яичника объемом 0,5 см³ с использованием эндоскопических ножниц.

По окончании операции брюшную полость промывали 0,9% раствором хлорида натрия. Для удаления сгустков крови и жидкости из верхних этажей брюшной полости больную переводили в положение Fowler с опущенным ножным концом. Окончательный контроль гемостаза осуществлялся в положении Trendelenburg после заполнения полости малого таза физиологическим раствором, гемостаз осуществлялся с применением

биполярного коагулятора. У всех пациенток оценивали длительность операции и величину интраоперационной кровопотери.

В послеоперационном периоде всем пациенткам проводилась инфузионная терапия, противовоспалительная, антибактериальная терапия, профилактика тромбозов и тромбоэмболических осложнений.

После резекции толстой кишки проводили декомпрессию ее просвета анальным зондом диаметром до 1,5 см, установленным проксимальнее линии анастомоза. Через сутки после операции проводили болюсное промывание просвета кишки растворами антисептиков. Удаляли зонд на 4–5-е сутки. В случае резекции стенки мочевого пузыря применяли продленную катетеризацию мочевого пузыря в течение 7 суток послеоперационного периода.

В позднем послеоперационном периоде после гистологической верификации эндометриоза всем пациенткам основной группы назначали противорецидивную терапию агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона в течение 3 месяцев.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Общеклиническое обследование

Клиническую оценку состояния здоровья обследованных женщин проводили с помощью разработанной статистической карты. Анамнестические данные получены в результате личного собеседования с пациентками. Оценивались жалобы пациентки, проводился осмотр и гинекологическое исследование, а также клинические обследования согласно приказу МЗ РФ № 1130н от 20.10.2020 для пациенток с эндометриозом перед оперативным лечением.

Изучение анамнестических данных проводилось на основании анализа антропометрических данных, характера перенесенных экстрагенитальных и гинекологических заболеваний, сопутствующей патологии. Производилась оценка менструальной, половой, репродуктивной функций. Детально

характеризовался менструальный цикл (наступление менархе, продолжительность и объем кровопотери, наличие и выраженность болевого синдрома).

Клиническое обследование и оценку гинекологического статуса проводили по общепринятой схеме. Лабораторные исследования проводились до поступления в стационар, перед операцией, в послеоперационном периоде, а также по показаниям.

Все женщины были консультированы терапевтом, анестезиологом, при необходимости осуществлялась консультация другими специалистами.

2.2.2. Ультразвуковое исследование органов малого таза

УЗИ органов малого таза проводилось на аппарате Voluson 8 (General Electric®) с использованием мультичастичного абдоминального датчика с частотой 3,5-5 МГц и полостного трансвагинального конвексного датчика частотой 6,5 МГц с программным обеспечением для реализации триплексного режима сканирования (серошкальный В-режим в сочетании цветового и импульсного доплера в масштабе реального времени - «real-time processing»). При проведении ультразвукового исследования органов малого таза на 5-7 дни менструального цикла оценивали состояние фолликулярного аппарата яичников с подсчетом количества антральных фолликулов, которое представляет собой сумму антральных фолликулов в яичниках со средним диаметром 3-10 мм в наибольшей двухмерной плоскости. Также оценивали размер яичников в трех плоскостях с расчетом объема здоровой ткани яичника по формуле: $D1 \times D2 \times D3 \times 0,523$, где D1, D2 и D3 — максимальные продольный, дорзовентральный и поперечный диаметры. При наличии объемных образований яичников измеряли их в трех плоскостях, а также описывали их структуру и характер содержимого. При визуализации эндометриоидного очага оценивали его локализацию и размеры. Кроме того, оценивали положение матки в полости малого таза, ее форму, размеры, структуру миометрия, измеряли срединное маточное М-эхо, диагностировали наличие объемных образований матки, пороков

развития внутренних половых органов, патологию эндометрия, шейки матки, маточных труб, спаечного процесса органов малого таза.

Исследование проводили в отделении биофизических и лучевых методов исследования ФГБУ «Уральский НИИ охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ (руководитель – д.м.н. Косовцова Н.В.).

2.2.3. Магнитно-резонансная томография органов малого таза

Магнитно-резонансная томография органов малого таза проводилась на МР-сканере Signa HDx 1.5T MR system. Оценивали локализацию и размеры эндометриоидного инфильтрата, а также степень вовлеченности смежных органов в патологический процесс. Также измеряли размер яичников; при наличии в них объемных образований оценивали их размер, а также структуру и характер содержимого. Кроме того, оценивали положение матки в полости малого таза, ее форму, размеры, структуру миометрия, диагностировали наличие объемных образований матки, пороков развития внутренних половых органов, патологию эндометрия, шейки матки, маточных труб, наличие и степень спаечного процесса органов малого таза.

Исследование проводили в отделении биофизических и лучевых методов исследования ФГБУ «Уральский НИИ охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ (руководитель – д.м.н. Косовцова Н.В.).

2.2.4. Иммуноферментный анализ

Содержание половых гормонов АМГ, ФСГ и эстрадиола в сыворотке крови оценивали на 2-5 дни менструального цикла методом иммуноферментного анализа (ИФА) на иммунохимическом анализаторе Access 2 (Beckman Coulter, США) с использованием реагентов того же производителя в соответствии с инструкцией.

Исследование проводили в отделении иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «Уральский НИИ охраны материнства

и младенчества» Министерства здравоохранения РФ (руководитель – д.м.н., проф. Чистякова Г.Н.).

2.2.5. Молекулярно-генетические методы исследования

2.2.5.1. Молекулярно-генетическое исследование полиморфизмов генов

Молекулярно-генетическое типирование полиморфных вариантов генов, кодирующих белки, участвующие в регуляции апоптоза (С-KIT: 2600G>A, KITLG: 80441 C>T, TP53: Ex4+119 G>C (Arg72Pro), регуляции ангиогенеза (VEGF-A: +12143 C>A, VEGF-A: -2578C>A, VEGF-A: -634 G>C, VEGF-A: +936C>T) с использованием комплекта реагентов ООО «ТестГен», Россия. ДНК выделяли из 0,5 мл венозной крови, взятой в пробирку с этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА) в качестве антикоагулянта; использовали реагенты Проба ГС-Генетика (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Для оценки количества выделенной геномной ДНК применяли набор реагентов контроля взятия материала для метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Для исследования брали не менее 1,0 нг геномной ДНК на реакцию. Генотипирование образцов по аллельным вариантам исследуемых генов проводили методом аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени со снятием кривых плавления продуктов амплификации. Анализ результатов ПЦР проводили в автоматическом режиме программного обеспечения детектирующего амплификатора ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Исследование проводили в лаборатории генетики отделения лабораторных методов исследования ФГБУ «Уральский НИИ охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ (руководитель – к.м.н., доцент Третьякова Т.Б.)

2.2.5.2. Определение мутаций методом секвенирования ДНК нового поколения

Поиск мутаций гена PIK3CA осуществлялся в образцах тканей эндометриом яичников у пациенток с сочетанием инфильтративного эндометриоза и эндометриоидных кист яичников, а также в биоптатах здоровой ткани яичника у всех пациенток основной группы и группы сравнения. Исследовались наиболее часто описанные в литературе активирующие мутации гена PIK3CA: с.1624G>A (p.E542K), с.1625A>G (p.E542G), с.1625A>T (p.E542V), с.1633G>A (p.E545K), с.1634A>G (p.E545G), с.1635G>T (p.E545D), с.1636C>G (p.Q546E), с.1636C>A (p.Q546K), с.1637A>C (p.Q546P), с.1637A>G (p.Q546R), с.3139C>T (p.H1047Y), с.3140A>T (p.H1047L), с.3140A>G (p.H1047R).

Геномная ДНК выделена из образцов тканей с использованием набора MagNA Pure LC DNA Isolation Kit I («Roche Diagnostics», Швейцария) с помощью MagNA Pure LC 2.0 Instrument («Roche Diagnostics», Швейцария). В дальнейшем проведены этапы подготовки проб перед высокопроизводительным параллельным секвенированием (next-generation sequencing - NGS) и, собственно, NGS на секвенаторе MiSeq («Illumina», США) в соответствии со стандартными протоколами. Анализ качества полученных данных проводили с помощью программных обеспечений DNA Sequence Assembler (Heracle BioSoft S.R.L., Румыния) и BWA-0.7.13 (Li H., Durbin R., Великобритания). Выравнивание на геном человека, а также сборка последовательности из прочтений проводили с использованием программы BLAST (National Library of Medicine, США). Анализ подготовленных данных проводили с помощью программного обеспечения MEGA v.7.0 (Япония).

Исследование проводили на базе лаборатории медико-генетического центра «Геномед» (ООО «Геномед», г. Москва).

2.2.6. Гистологическое исследование

Проводилась световая (обзорная) микроскопия очагов эндометриоза и биоптатов яичника, полученных во время хирургического лечения. Иссеченные

очаги эндометриоза и биоптаты яичника для гистологического исследования фиксировали в 10% нейтральном формалине, заключали в парафин, делали срезы толщиной 5 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Carl Zeiss Primo Star.

Гистологическую верификацию эндометриоза проводили на основании обнаружения в инфильтративных очагах эндометриальных желез, стромы и отложений гемосидерина. Также оценивали наличие в очагах эндометриоза участков гиалиноза, моноклеарной инфильтрации, полнокровных сосудов, участков кровоизлияний, отека и фиброза.

На гистологических препаратах биоптатов яичника оценивалась наличие и число примордиальных и первичных фолликулов. Также оценивалось наличие очагов артериологиалиноза, фиброза, полнокровных сосудов и кровоизлияний, отложений гемосидерина.

Исследование проводили в отделении иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «Уральский НИИ охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ (руководитель – д.м.н., проф. Чистякова Г.Н.).

2.2.7. Иммуногистохимическое исследование

Проведено иммуногистохимическое исследование с определением уровня экспрессии регуляторов апоптоза (AKT, PTEN, Bcl-2, P53), маркеров ангиогенеза (VEGF-R1) и рецепторов к эстрогену (ER) в гранулезе фолликулов биоптата яичника, а также в эпителии желез и строме эндометриоидных очагов.

Для ИГХ-исследования использовали двухэтапный стрептавидин-биотин-пероксидазный метод с демаскировкой антигена и применением стандартных наборов моноклональных и поликлональных антител фирмы «Bond RTU Primary» и «ДАКО», США. Для визуализации первичных антител использовали безбиотиновую систему детекции Super Sensitive Polymer-HRP Detection System (Biogenex).

Для иммуногистохимических реакций обрабатывали парафиновые срезы по традиционной методике с предварительной демаскировкой антигенов в СВЧ-печи с использованием соответствующих стандартных моноклональных или поликлональных антител. использованием и bcl-2 (клон 100/D5).

Для иммуногистохимических реакций обрабатывали парафиновые срезы по традиционной методике с предварительной демаскировкой антигенов в СВЧ-печи с использованием соответствующих стандартных моноклональных или поликлональных антител.

Экспрессию рецепторов к эстрогену (ER) определяли с помощью мышиных моноклональных антител к эстрогеновым рецепторам- α (клон 6F-11). Экспрессию ингибитора апоптоза bcl-2 (B-клеточная лимфома-2) также определяли с помощью мышиных моноклональных антител (клон 100/D5) и оценивали по 3-балльной шкале (слабая, средняя и выраженная степень). Анализ результатов ИГХ реакций для ER1 и bcl-2 проводили с использованием метода гистологического счета H-score по формуле: $HS = 1a + 2b + 3c$, где a – % слабо окрашенных клеток, b – % умеренно окрашенных клеток, c – % сильно окрашенных клеток, 1, 2, 3 – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах.

Экспрессию протеинкиназы AKT, фосфатазы PTEN, белка P53 (клон DO-7), и рецептора сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGFR1 (поликлональные, Дания) определяли по ядерному или мембранному окрашиванию клеток для соответствующих маркеров с оценкой процента окрашенных клеток при увеличении $\times 400$, при этом изучали не менее 10 полей зрения.

Исследование проводили в отделении иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «Уральский НИИ охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ (руководитель – д.м.н., проф. Чистякова Г.Н.).

2.2.8. Математические методы

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакетов прикладных программ «Microsoft Excel» (2010), «StatSoft Statistica 10.0» (StatSoft, США), SPSS Statistics версия 26.0 (IBM Microsoft, США), «Multifactor Dimensionality Reduction 2.0 beta 8». В случае подчинения распределения признака закону нормального распределения данные представляли в виде средней величины (M) и стандартной ошибки средней (m). Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков в независимых группах осуществляли с использованием процедуры однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). При отклонении распределения признака от закона нормального распределения, данные представляли в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го процентилей, P_{25} - P_{75}). Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков осуществляли с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis), при отклонении нулевой гипотезы в ходе анализа проводили попарное сравнение групп. Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков в зависимых группах (до и после лечения) осуществляли с помощью непараметрического критерия Вилкоксона, t-критерия Стьюдента для несвязанных совокупностей и парного t-критерия Стьюдента.

Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное значение и относительную величину в процентах, проверку статистических гипотез осуществляли с использованием критерия хи-квадрат (χ^2). Критический уровень значимости различий (p), при котором нулевая гипотеза об отсутствии различий отвергалась и принималась альтернативная, устанавливали равным 0,025 (критерий Краскела-Уоллиса) и $p < 0,05$ (критерий Вилкоксона). Для выявления взаимосвязи переменных проводили расчет коэффициента корреляции по Пирсону (r). При уровне значения коэффициента корреляции $r < 0,3$ зависимость считалась слабой, при значении r от 0,3 до 0,7 - умеренной, при значении $r > 0,7$ - сильной.

Определение достоверности различий между подгруппами пациенток по частотам генотипов и аллелей проводили с помощью критерия χ^2 . Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ). Тест на соответствие распределения генотипов закону Харди—Вайнберга в обеих выборках проводили с помощью критерия χ^2 с использованием программы Hardy—Weinberg equilibrium.

Для учета влияние полиморфных генетических маркеров использовалось несколько моделей риска. Общая (аддитивная) модель предполагает, что пенетрантность (ожидаемое значение признака) у гетерозигот лежит между значениями пенетрантности для обеих гомозигот. При анализе с использованием общей модели по отдельности оцениваются частоты «дикого» гомозиготного, гетерозиготного и полиморфного генотипов. Мультипликативная модель предполагает, что пенетрантность зависит от количества копий предрасполагающего аллеля, в исследуемых группах оценивается частота по отдельности каждого вариантного аллеля («дикого» или полиморфного). Доминантная модель предполагает, что полиморфный аллель является доминантным, и его значение проявляется при гетеро- и гомозиготном носительстве – оценивается суммарная частота гетерозигот и полиморфных гомозигот. Рецессивная модель предполагает, что полиморфный аллель является рецессивным, и что влияние на пенетрантность проявляется только для полиморфных гомозигот, в исследуемых группах сравниваются частота полиморфных гомозигот и суммарная частота гетерозигот и «диких» гомозигот [83, 191].

Межгенные взаимодействия оценивали с использованием биоинформатического метода сокращения многофакторной размерности (MDR), позволяющим оценивать все двухфакторные, трехфакторные и четырехфакторные модели комбинаций SNP, выбирая наилучшие модели, характеризующиеся наименьшей ошибкой предсказания и наивысшей воспроизводимостью. Окончательный уровень значимости p для наилучшей n -локусной модели

оценивался процедурой Монте-Карло (1000 симуляций). Статистически значимым считали различия при $p < 0,05$.

Для определения эффективности прогностических критериев рассчитывали показатели чувствительности (процентное выражение частоты истинноположительных (ИП) результатов у больных) и специфичности (процентное выражение частоты истинноотрицательных (ИО) результатов у здоровых) разработанных способов: чувствительность = $(\text{ИП}/\text{больные}) \times 100\%$; специфичность = $(\text{ИО}/\text{здоровые}) \times 100\%$. Эффективность разработанных способов прогнозирования выражали отношением истинных (соответствующих состоянию обследуемых пациентов) результатов тестов к общему числу полученных результатов: Эффективность = $(\text{ИП} + \text{ИО}) / (\text{ИП} + \text{ЛП} + \text{ИО} + \text{ЛО}) \times 100\%$, где ЛП – ложноположительные результаты (количество здоровых, имеющих положительный результат); ЛО – ложноотрицательные результаты (количество больных, имеющих отрицательный результат).

При помощи общего дискриминантного анализа, который дает возможность по имеющейся (обучающей) выборке объектов, характеризующихся совокупностью показателей с наибольшим относительным информационным весом, строить дискриминантные функции (решающие правила), наилучшим образом разделяющие объекты обучающей выборки и позволяющие относить каждый новый объект к тому или иному классу (метод распознавания образов).

Зависимость чувствительности и специфичности классификации функции прогноза исследовали методом ROC-анализа. Основой данного анализа является построение ROC-кривой, которая показывает количества верно классифицированных положительных примеров от количества неверно классифицированных отрицательных примеров.

Таблица 1 – Общее количество произведенных исследований

Методы исследования	Количество
Клинико-статистический анализ	120
Ультразвуковое исследование органов малого таза	240
Магнитно-резонансная томография	120
Иммуноферментный анализ	240
Молекулярно-генетическое исследование полиморфизмов генов	120
Определение мутаций гена <i>PIK3CA</i>	150
Гистологическое исследование биоптата яичника	120
Гистологическое исследование очага эндометриоза	70
Иммуногистохимическое исследование биоптата яичника	120
Иммуногистохимическое исследование очага эндометриоза	70

2.3 Клиническая характеристика пациенток в группах наблюдения

В соответствии с целью исследования и поставленными задачами в данной работе нами представлены результаты клинико-статистического анализа 120 обследованных пациенток: из которых 70 женщин репродуктивного возраста, перенесших хирургическое лечение глубокого инфильтративного эндометриоза и 50 фертильных пациенток репродуктивного возраста, которым была выполнена пластическая операция на матке в период с 2019 по 2021 гг.

2.3.1. Клиническая характеристика пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом

При изучении анамнеза обследованных групп женщин были выявлены следующие особенности. Возраст пациенток в группах наблюдения охватывал в основном средний репродуктивный возраст и колебался от 23 до 40 лет, составив в среднем в основной группе $32,64 \pm 4,77$ лет, в группе сравнения $32,86 \pm 3,44$ лет, $p > 0,05$. Группы сопоставимы по возрасту (таблица 2).

Таблица 2 – Клиническая характеристика групп наблюдения, $M \pm m$

Показатели	Основная группа (n=70)	Группа сравнения (n=50)	Уровень значимости различий, p
Возраст, лет	32,64±4,77	32,86±3,44	NS
Масса тела, кг	61,54±10,97	62,11±10,52	NS
Рост, см	165,04±6,18	162,96±6,26	NS
ИМТ	22,54±3,57	23,40±3,91	NS

При распределении пациенток в группах наблюдения по возрастным интервалам значимых различий также не выявлено (таблица 3).

Таблица 3 - Распределение пациенток основной группы и группы сравнения по возрастным периодам, %

Возрастной период	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
До 30 лет	19	27,1	8	16,0	2,077	0,150	1,956	0,778	4,916
30-35 лет	34	48,6	31	62	2,119	0,146	0,579	0,277	1,212
36-40 лет	17	24,3	11	22,0	0,085	0,770	1,137	0,479	2,698

Средняя масса тела у пациенток основной группы составила 61,54±10,97 кг, в группе сравнения 62,11±10,52 кг, $p > 0,05$. Средний рост у пациенток основной группы составил 165,04±6,18 см, в группе сравнения 162,96±6,26 см, $p > 0,05$. Средний индекс массы тела у пациенток основной группы составил 22,54±3,57 кг/см², группе сравнения 23,40±3,91 кг/см², $p > 0,05$.

В группах наблюдения пациентки не имели достоверных различий в антропометрических показателях, у женщин наблюдались средние параметры роста и веса. Средний индекс массы тела находился в пределах нормальных значений (таблица 2).

Большинство пациенток групп наблюдения родились доношенными – 69/70 (98,6%) женщин родились доношенными в основной группе, 50/50 (100%)

женщин в группе сравнения, $p > 0,05$. При этом, медиана массы тела при рождении в основной группе составила 3350,0 (3350,0÷3400,0) г, в группе сравнения - 3280,0 (3200,0÷3400,0) г, $p > 0,05$ (таблица 4).

Таблица 4 - Масса тела при рождении и доля пациенток, рожденных от срочных родов, Me (P25÷P75)

Показатели	Основная группа (n=70)	Группа сравнения (n=50)	Уровень значимости различий, p
Родились доношенными, n (%)	69 (98,6%)	50 (100%)	NS
Масса тела при рождении, г	3350,0 (3350,0÷3400,0)	3280,0 (3200,0÷3400,0)	NS

При изучении социального статуса выявлено, что большинство пациенток групп наблюдения состояли в зарегистрированном браке – 57/70 (81,4%) женщин основной группы и 45/50 (90,0%) женщин группы сравнения, $p > 0,05$. Больше половины пациенток групп наблюдения имели высшее образование – 56/70 (80,0%) женщин в основной группе и 33/50 (66,0%) в группе сравнения, $p > 0,05$ (таблица 5).

Таблица 5 - Социальный статус пациенток групп наблюдения, %

Показатели	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Состоят в браке	57	81,4	45	90,0	1.681	0.185	0,487	0,162	1,468
Высшее образование	56	80,0	33	66,0	2.984	0.086	2,061	0,900	4,716

В структуре жалоб у пациенток основной группы преобладали хроническая тазовая боль, дисменорея, диспареуния и дисхезия (таблица 6). Пациентки с наличием глубокого инфилтративного эндометриоза значительно чаще страдали хронической тазовой болью (60/70, 85,7%), чем пациентки группы сравнения (6/50, 12,0%), $p < 0,001$. Также пациентки основной группы чаще испытывали диспареунию (14/70, 20%), чем пациентки группы сравнения (2/50, 4%), $p < 0,05$.

Таблица 6 – Основные жалобы пациенток групп наблюдения, %

Показатели	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Хроническая газовая боль	60	85,7	6	12,0	64,035	<0,001	44,000	14,878	130,125
Дисменорея	39	55,7	14	28	9,085	0,003	3,235	1,488	7,035
Диспареуния	14	20,0	2	4,0	6,462	0,011	6,000	1,298	1,367
Дисхезия	4	5,7	0	0,0	2,956	0,086	1,061	1,001	1,124
Дизурия	2	2,9	0	0,0	1,453	0,228	1,029	0,989	1,072

При оценке характера сопутствующей соматической патологии выявлено, что 7/70 (10,0%) пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом страдали хронической анемией, тогда как у пациенток группы сравнения при обследовании анемии выявлено не было, $p < 0,05$ (таблица 6).

Статистически значимых различий в частоте других экстрагенитальных заболеваний у пациенток в группах наблюдения не выявлено (таблица 7). Частота курения среди женщин также статистически значимо не различалась и составила 7/70 (10,0%) в основной группе и 5/50 (10%) в группе сравнения, $p > 0,05$.

Особенности становления менструальной функции и менструального цикла в группах наблюдения представлены в таблице 8. При оценке менструальной функции возраст менархе в группах наблюдения не отличался и составил 13,0 (12,0÷14,0) лет в обеих группах, $p > 0,05$.

Обращает на себя внимание значимо меньшая продолжительность менструального цикла у пациенток основной группы - 26,0 (25,0÷27,0) дней, чем у пациенток группы сравнения - 29,0 (28,0÷30,0) дней, $p < 0,001$. Медиана длительности менструации составила 5,0 (4,0÷6,0) дней в обеих группах наблюдения, $p > 0,05$ (таблица 8).

Таблица 7 - Структура сопутствующих экстрагенитальных заболеваний у пациенток групп наблюдения, %

Группа заболеваний (код МКБ-10)	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
ВИЧ (B20). Гепатиты В, С (B18)	2	2,9	0	0,0	1,453	0,228	1,029	0,989	1,072
Заболевания сердечно-сосудистой системы (I00-I99)	10	14,3	12	24,0	1,838	0,175	0,528	0,208	1,341
Заболевания органов дыхания (J00-J99)	4	5,7	7	14,0	2,405	0,121	0,372	0,103	1,349
Заболевания эндокринной системы (E00-E90)	6	8,6	4	8,0	0,012	0,911	1,078	0,288	4,039
Заболевания желудочно-кишечного тракта (K00-K93)	14	20,0	12	24,0	0,275	0,600	0,729	0,330	1,898
Заболевания мочевыводящей системы (N00-N99)	7	10,0	9	18,0	1,615	0,204	0,506	0,175	1,466
Заболевания молочной железы (N60-N64)	3	4,3	1	2,0	0,473	0,492	2,194	0,222	21,730
Заболевания органов зрения (H00-H59)	8	11,4	6	12,0	0,009	0,923	0,946	0,307	2,920
Заболевания крови (D50-D89). Анемия (D64)	7	10,0	0	0,0	5,310	0,021	1,111	1,028	1,201
Заболевания кожи (L00-L99)	1	1,4	0	0,0	0,720	0,396	1,014	0,986	1,044
Заболевания костно-мышечной системы и соединительной ткани (M00-M99)	2	2,9	3	6,0	0,721	0,396	0,461	0,074	2,865

Таблица 8 - Характеристика становления менструальной функции и особенности менструального цикла пациенток групп наблюдения, Ме (P25÷P75)

Показатели	Основная группа (n=70)	Группа сравнения (n=50)	Уровень значимости различий, p
Возраст менархе, лет	13,0 (12,0÷14,0)	13,0 (12,0÷14,0)	0,153
Продолжительность менструального цикла, дни	26,0 (25,0÷27,0)	29,0 (28,0÷30,0)	<0,001
Длительность менструации, дни	5,0 (4,0÷6,0)	5,0 (4,0÷6,0)	0,340

Болезненный характер менструаций наблюдался более, чем у половины пациенток основной группы (39/70, 55,7%), что было значимо выше, чем у пациенток группы сравнения (14/50, 28,0%), $p=0,003$. Частота встречаемости обильных и скудных менструаций, а также нарушений менструального цикла в анамнезе значимо не различались в группах наблюдения (таблица 9).

Таблица 9 - Характеристика менструаций у пациенток групп наблюдения, %

Показатели	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Болезненные менструации	39	55,7	14	28	9,085	0,003	3,235	1,488	7,035
Обильный характер менструаций	15	21,4	13	26,0	0,341	0,599	0,776	0,331	1,819
Скудный характер менструаций	2	2,9	0	0,0	1,453	0,228	1,029	0,989	1,072
Нарушение менструального цикла	4	5,7	3	6,0	0,004	0,948	0,949	0,203	4,442

Не было статистически значимых различий по возрасту начала половой жизни и частоте использования комбинированных оральных контрацептивов в анамнезе у пациенток групп наблюдения, $p>0,05$ (таблица 10).

Таблица 10 – Возраст начала половой жизни, Me (P25÷P75), и частота приема комбинированных оральных контрацептивов у пациенток групп наблюдения

Показатели	Основная группа (n=70)	Группа сравнения (n=50)	Уровень значимости различий, p
Возраст начала половой жизни, лет	18,0 (17,0÷19,0)	18,0 (17,0÷18,0)	0,259
Применение комбинированных оральных контрацептивов в анамнезе, n (%)	20 (28,6%)	16 (32,0%)	0,686

При оценке акушерского анамнеза выявлено, что хотя бы одна беременность в анамнезе наблюдалась у 37/70 (52,9%) пациенток основной группы, при этом у 29/70 (41,4%) она закончилась родами, тогда как 50/50 (100%) женщин группы сравнения имели роды в анамнезе ($p < 0,001$). Частота медицинских аборт в анамнезе была значимо ниже у пациенток с ГИЭ (7/70, 10,0%), чем у пациенток группы сравнения (17/50, 34,0%), $p = 0,011$. Неразвивающиеся беременности в анамнезе были у 6/70 (8,6%) пациенток основной группы, что было значимо меньше, чем в группе сравнения (14/50, 28%), $p = 0,005$. Не было статистически значимых различий по частоте встречаемости самопроизвольных выкидышей и эктопических беременностей у пациенток обеих групп, $p > 0,05$ (таблица 11).

Таблица 11 – Акушерский анамнез пациенток групп наблюдения, %

Показатели	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Беременности в анамнезе	37	52,9	50	100	35,512	<0,001	0,529	0,659	0,423
Роды в анамнезе	29	41,4	50	100	44,485	<0,001	0,414	0,547	0,314
Срочные роды	27	38,6	47	94,0	37,908	<0,001	0,040	0,11	0,142
Преждевременные роды	2	2,8	8	16,0	6,595	0,011	0,154	0,031	0,762
Медицинский аборт	10	14,3	17	34,0	6,501	0,011	0,324	0,133	0,787
Самопроизвольный выкидыш	4	5,7	6	12,0	1,509	0,219	0,444	0,119	1,666
Неразвивающаяся беременность	6	8,6	14	28,0	7,927	0,005	0,241	0,085	0,682
Эктопическая беременность	3	4,3	3	6,0	0,180	0,671	0,701	0,136	3,628

При распределении пациенток по количеству беременностей обращает на себя внимание, что из 37/70 (52,9%) пациенток основной группы наступившая беременность была единственной для 21/70 (30,0%) женщин. Более трех беременностей в анамнезе имели лишь 4/70 (5,7%) пациенток основной группы, тогда как в группе сравнения данный показатель составил 11/50 (22,0%), $p = 0,008$. Одни роды в анамнезе имели 23/70 (32,9%) пациенток основной группы и 37/50

(74,0%) пациенток группы сравнения, $p < 0,001$. Максимальное число родов у женщин основной группы ограничивалось двумя, их частота составила 6/70 (8,6%), в группе сравнения 11/50 (22%) женщин имели двое родов в анамнезе, $p = 0,038$ (таблица 12).

Таблица 12 – Распределение пациенток групп наблюдения по количеству беременностей и родов в анамнезе, %

Показатели	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Беременностей не было	33	47,1	0	0,0	35,512	<0,001	1,892	1,516	2,360
1 беременность	21	30,0	21	42,0	1,846	0,174	0,592	0,277	1,265
2 беременности	6	8,6	9	18,0	2,371	0,124	0,427	0,141	1,289
3 беременности	6	8,6	9	18,0	2,371	0,124	0,427	0,141	1,289
Более 3 беременностей	4	5,7	11	22,0	7,073	0,008	0,215	0,064	0,0721
Родов не было	41	58,6	0	0,0	44,485	<0,001	2,414	1,827	3,189
1 роды	23	32,9	37	74,0	21,150	<0,001	0,161	0,072	0,362
2 родов	6	8,6	11	22,0	4,325	0,038	0,332	0,114	0,970
Более 2 родов	0	0,0	2	4,0	2,847	0,092	0,960	0,907	1,016

Характер гинекологических заболеваний, перенесенных ранее обследованными пациентками, приведен в таблице 13. При оценке гинекологического анамнеза было выявлено, что эктопия шейки матки отмечалась у 12/70 (17,1%) пациенток основной группы против 2/50 (4,0%) в группе сравнения, $p = 0,027$. У 6/70 (8,6%) пациенток глубокий инфильтративный эндометриоз сочетался с врожденными пороками развития внутренних половых органов, у пациенток группы сравнения врожденных пороков развития половых органов не отмечалось ($p = 0,034$). Миома матки также встречалась чаще в основной группе (21/70, 30%), чем в группе сравнения (5/50, 10%), $p = 0,009$. Не было статистически значимых различий по частоте встречаемости других гинекологических заболеваний в двух группах.

Таблица 13 - Гинекологический анамнез пациенток исследуемых групп, %

Группа заболеваний (код МКБ-10)	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Инфекции, передающиеся половым путем (A50-A64)	1	1,4	1	2,0	0,058	0,810	0,710	0,043	11,630
Эктопия шейки матки (N86)	12	17,1	2	4,0	4,889	0,027	4,966	1,059	23,279
Дисплазия шейки матки (N87)	3	4,3	1	2,0	0,473	0,492	2,194	0,222	21,730
Врожденные пороки развития внутренних половых органов (Q50-Q56)	6	8,6	0	0,00	4,511	0,034	1,094	1,018	1,175
Хронический эндометрит (N71.1)	0	0,00	1	2,0	1,412	0,235	0,980	0,942	1,020
Внутриматочные синехии (N85.6)	2	2,9	0	0,0	1,453	0,228	1,029	0,989	1,072
Гиперпластические заболевания эндометрия (N84.0, N85.0)	12	17,1	5	10,0	1,224	0,269	1,862	0,611	5,670
Миома матки (D25)	21	30,0	5	10,0	6,874	0,009	3,857	1,342	11,088
Аденомиоз (N80.0)	5	7,1	3	6,0	0,061	0,805	1,205	0,274	5,293
Хронический аднексит (N70.1)	1	1,4	1	2,0	0,058	0,810	0,710	0,043	11,630
Неэндометриоидные кисты яичников (N83, D27)	2	2,9	3	6,0	0,721	0,396	0,461	0,074	2,865

Половина пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом (34/70, 48,6%) страдали бесплодием, тогда как в группе сравнения данный показатель составил 7/50 (14,0%), $p < 0,001$. При этом отмечается преобладание первичного эндометриоз-ассоциированного бесплодия (24/70, 34,3%) над вторичным (13/70, 18,6%). Пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом значительно чаще применяли методы вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе (11/70, 15,7%), чем пациентки группы сравнения (1/50, 2,0%), $p = 0,014$ (Таблица 14).

При анализе данных структуры гинекологических оперативных вмешательств в группах наблюдения не выявлено статистически значимых различий в частоте хирургических вмешательств на яичниках в анамнезе у пациенток двух групп (17/70 (24,3%) в основной группе против 6/50 (12,0%) в группе сравнения), $p > 0,05$. 14/70 (20,0%) пациенток основной группы перенесли хирургическое лечение эндометриом яичников в анамнезе, в среднем $4,6 \pm 3,9$ лет назад.

Таблица 14 - Структура бесплодия в группах наблюдения, %

Показатели	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Бесплодие в целом	34	48,6	7	14,0	15,498	<0,001	5,802	2,298	14,648
Первичное бесплодие	24	34,3	4	8,0	11,265	0,001	6,000	1,929	18,661
Вторичное бесплодие	13	18,6	5	10,0	1,681	0,195	2,053	0,681	6,185
Вспомогательные репродуктивные технологии в анамнезе	11	15,7	1	2,0	6,095	0,014	9,136	1,139	73,263

Хирургическое иссечение очагов эндометриоза в анамнезе перенесли 7/70 (10%) пациенток основной группы в среднем $3,1 \pm 3,0$ года назад. Гистероскопические операции в анамнезе чаще наблюдались в основной группе (18/70, 25,7%), чем в группе сравнения (6/50, 12,0%), однако разница не достигла статистической значимости, $p > 0,05$. При оценке анамнеза других гинекологических операций значимых различий в двух группах выявлено не было (таблица 15).

Таблица 15 - Частота встречаемости и структура гинекологических операций у пациенток исследуемых групп, %

Группа заболеваний	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Операции на яичниках	17	24,3	6	12	2,842	0,092	2,352	0,854	6,477
Резекция яичника	1	1,4	3	6,0	1,892	0,169	0,227	0,023	2,250
Кистэктомия эндометриомы яичника	14	20,0	0	0,0	11,321	0,001	1,250	1,112	1,405
Кистэктомия других кист яичников	2	2,9	3	6,0	0,721	0,396	0,461	0,074	2,865
Диагностическая лапароскопия	8	11,4	4	8,0	0,381	0,537	1,484	0,421	5,228
Адгезиолизис	5	7,1	2	4,0	0,524	0,469	1,846	0,343	9,923
Иссечение очагов эндометриоза	7	10,0	0	0,0	5,310	0,021	1,111	1,028	1,201
Сальпингэктомия	4	5,7	2	4,0	0,180	0,671	1,455	0,256	8,267
Миомэктомия	1	1,4	4	8,0	3,154	0,076	0,167	0,018	1,539
Гистероскопия	18	25,7	6	12,0	3,429	0,064	2,538	0,927	6,951
Иссечение внутриматочной перегородки	2	2,9	0	0,0	1,453	0,228	1,029	0,989	1,072
Рассечение внутриматочных синехий	1	1,4	90	0,0	0,720	0,396	1,014	0,986	1,044

Таблица 16 - Особенности трансвагинального ультразвукового исследования у пациенток групп наблюдения, $M \pm m$

Показатели	Основная группа (n=70)	Группа сравнения (n=50)	Уровень значимости различий, p
Длина матки, мм	48,33±8,84	48,28±5,46	0,965
Ширина матки, мм	48,31±8,48	48,08±9,76	0,894
Толщина матки, мм	41,75±9,22	41,28±5,82	0,732
М-ЭХО, мм	7,54±5,35	6,54±2,18	0,160
Длина правого яичника, мм	34,39±14,29	31,35±6,46	0,120
Ширина правого яичника, мм	24,01±12,44	21,42±5,89	0,132
Толщина правого яичника, мм	25,89±12,43	21,54±5,65	0,011
Объем правого яичника, см³	19,94±43,79	8,56±5,80	0,035
Объемное образование правого яичника, n (%)	18 (25,7%)	1 (2,0%)	<0,001
Количество антральных фолликулов в правом яичнике, шт.	4,36±2,55	6,02±2,03	<0,001
Длина левого яичника, мм	36,12±15,91	30,36±6,11	0,008
Ширина левого яичника, мм	27,11±17,24	20,68±4,78	0,004
Толщина левого яичника, мм	26,86±14,15	21,65±4,93	0,006
Объем левого яичника, см³	28,91±61,29	7,87±5,19	0,006
Объемное образование левого яичника, n (%)	18 (25,7%)	0 (0,0%)	<0,001
Количество антральных фолликулов в левом яичнике, шт.	3,79±2,72	5,86±2,23	<0,001
Общее количество антральных фолликулов в яичниках	8,06±4,41	11,88±4,04	<0,001

Особенности трансвагинального ультразвукового исследования у пациенток групп наблюдения представлены в таблице 16. Обращает на себя внимание значительное преобладание объема яичников у пациенток основной

группы, что связано с большей частотой наличия в них объемных образований, чем у пациенток группы сравнения. У пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом статистически значимо снижено количество антральных фолликулов в яичниках ($8,06 \pm 4,41$) по сравнению с пациентками второй группы ($11,88 \pm 4,04$), $p < 0,001$.

Средний временной промежуток от момента появления первых субъективных симптомов глубокого инфильтративного эндометриоза до включения пациенток в исследование составил $3,7 \pm 3,5$ лет. Впервые диагноз глубокого инфильтративного эндометриоза пациенткам, вошедшим в исследование, был установлен в среднем $1,4 \pm 2,8$ лет назад. В среднем промежуток от появления субъективных симптомов до постановки диагноза глубокого инфильтративного эндометриоза составил $2,2 \pm 2,7$ лет (рисунок 6).

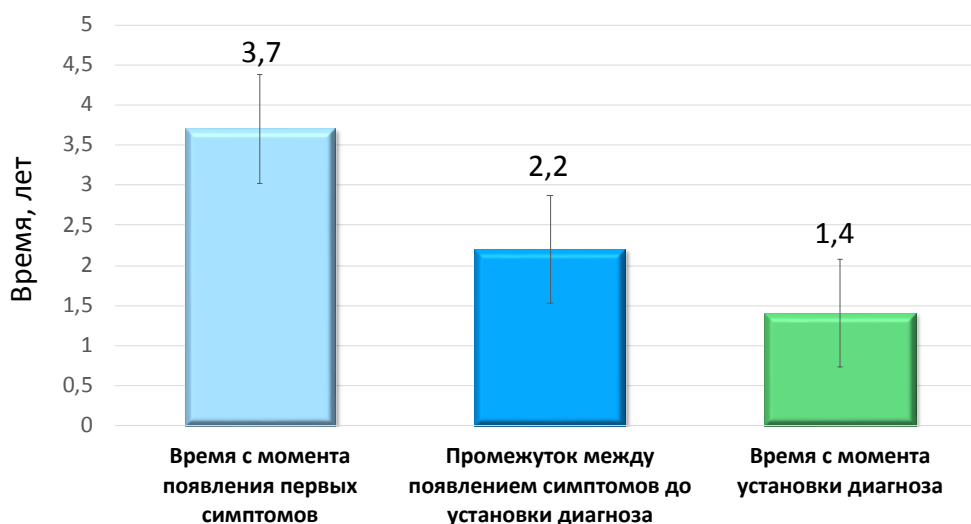


Рисунок 6 - Длительность течения заболевания у пациенток основной группы, $M \pm m$

В ходе проведения лапароскопии у пациенток основной группы было обнаружено от одного до четырех очагов инфильтративного эндометриоза с глубиной инвазии в брюшинное пространство более 5 мм. Средняя длина доминантного эндометриоидного очага составила $18,4 \pm 8,8$ мм, ширина – $14,9 \pm 6,2$ мм, толщина – $11,9 \pm 5,2$ мм. Распределение пациенток по количеству эндометриоидных очагов представлено на рисунке 7.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОК ПО КОЛИЧЕСТВУ ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ ИНФИЛЬТРАТОВ

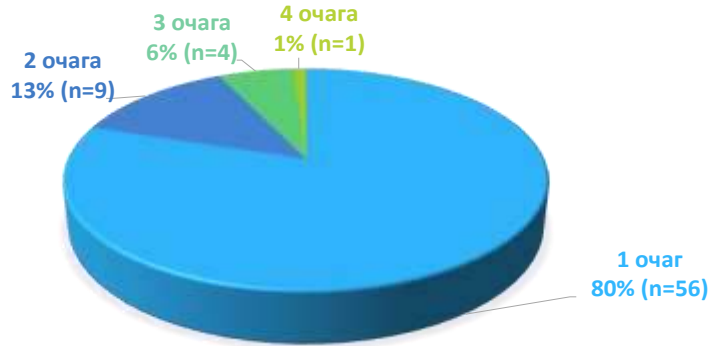


Рисунок 7 Распределение пациенток основной группы по количеству эндометриоидных очагов

Локализация эндометриоидных инфильтратов у пациенток основной группы представлена на рисунке 8. Превалирующей локализацией эндометриоидных очагов у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом были ректовагинальная перегородка (58/70, 82,9%), крестцово-маточные связки (54/70, 77,1%), а также передне-маточное пространство (20/70, 28,6%). Средняя интраоперационная оценка тяжести эндометриоза по классификационной схеме R-AFS у пациенток основной группы составила $56,3 \pm 22,8$ баллов. Спаечный процесс органов малого таза тяжелой и крайне тяжелой степени наблюдался у 50/70 (71,4%) женщин с глубоким инфильтративным эндометриозом.



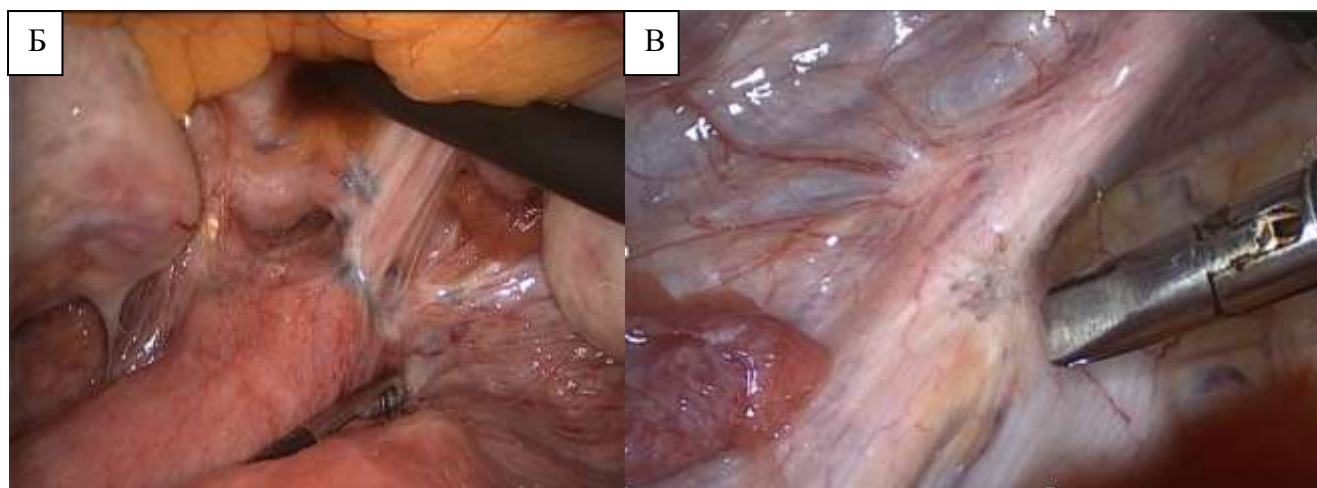


Рисунок 8 - Локализация эндометриoidных инфильтратов у пациенток основной группы. А. Распределение пациенток основной группы по локализации эндометриoidных очагов. Б. Эндометриoidный инфильтрат в позадиматочном пространстве с вовлечением прямой кишки у пациентки основной группы. В. Эндометриoidный инфильтрат на крестцово-маточно связке у пациентки основной группы.

У 30/70 (42,9%) пациенток глубокий инфильтративный эндометриоз сочетался с эндометриoidными кистами яичников, что потребовало выполнения кистэктомии. Диаметр кист колебался от 3,0 до 8,0 см, составив в среднем $5,1 \pm 1,7$ см. У 24/30 (80%) пациенток данной категории отмечались унилатеральные эндометриомы, у 6/30 (20%) женщин – билатеральные эндометриомы. У 70% (21/30) пациенток эндометриoidная киста яичника была выявлена впервые, 30% (9/30) женщин уже имели в анамнезе кистэктомия эндометриомы яичника (таблица 17).

Таблица 17 – Характеристика эндометриом яичников у пациенток основной группы, $M \pm m$

Показатели Группа	Диаметр кисты, см	Односторонняя эндометриома яичника, n (%)	Двусторонние эндометриомы яичников, n (%)	Впервые выявленная эндометриома, n (%)	Рецидив эндометриомы яичника, n (%)
Пациентки основной группы с эндометриомой яичника, n=30	$5,1 \pm 1,7$	24 (80%)	6 (20%)	21 (70%)	9 (30%)

По данным гистологического исследования удаленных очагов эндометриоз верифицирован у 70/70 (100%) пациенток основной группы. Эндометриоидный характер удаленных кист яичников также был подтвержден гистологически у 30/30 (100%) пациенток с эндометриомами яичников.

2.3.2. Состояние овариального резерва и его динамика после хирургического лечения у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом

Исходные параметры овариального резерва у пациенток групп наблюдения представлены в таблице 18. При оценке состояния овариального резерва было выявлено, что уровень АМГ на дооперационном этапе был значимо ниже у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом (2,13 (0,96÷2,99) нг/мл), чем у пациенток группы сравнения (2,53 (1,84÷4,57) нг/мл), $p=0,001$ (рисунок 9).
Таблица 18 - Исходное состояние овариального резерва у пациенток групп наблюдения, Me (P25÷P75)

Показатель	Основная группа (n=70)	Группа сравнения (n=50)	Уровень значимости различий, p
Антимюллеров гормон, нг/мл	2,13 (0,96÷2,99)	2,58 (1,98÷4,57)	0,001
Фолликулостимулирующий гормон, мМЕ/мл	6,60 (4,26÷9,37)	5,15 (3,53÷6,54)	0,002
Эстрадиол, пг/мл	96,55 (58,10÷121,62)	100,50 (76,51÷120,00)	0,453
Количество антральных фолликулов яичников, шт.	7,50 (5,00÷10,00)	11,50 (10,00÷14,00)	<0,001

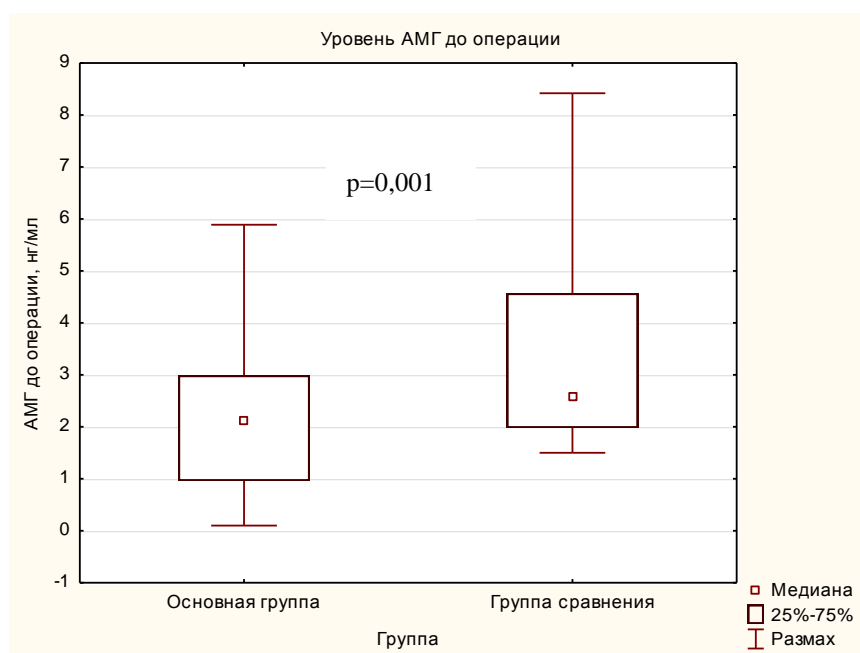


Рисунок 9 - Уровень антимюллера гормона у пациенток групп наблюдения на дооперационном этапе, Me (P25÷P75)

Исходный уровень ФСГ, напротив, был значимо выше у пациенток основной группы (6,60 (4,26÷9,37) мМЕ/мл), чем у пациенток группы сравнения (5,15 (3,53÷6,54) мМЕ/мл), $p=0,002$ (рисунок 10).

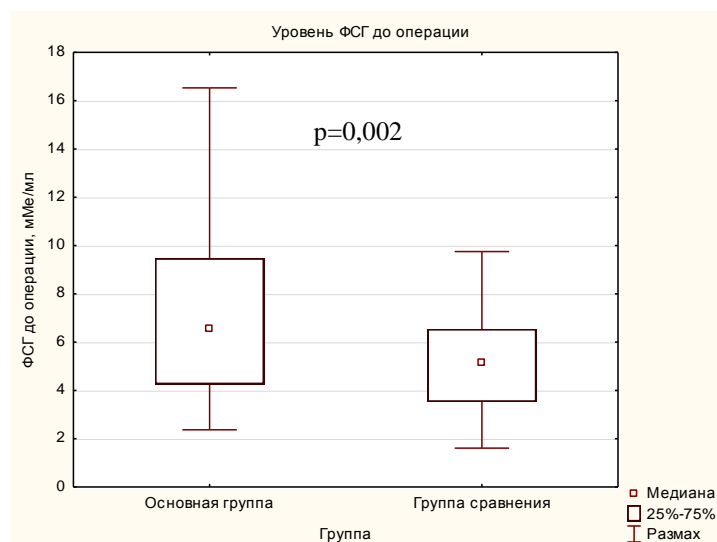


Рисунок 10 - Уровень фолликулостимулирующего гормона у пациенток групп наблюдения на дооперационном этапе, Me (P25÷P75)

Не выявлено статистически значимых различий в уровне эстрадиола в сыворотке крови на дооперационном этапе между пациентками основной группы (96,55 (58,10÷121,62) пг/мл) и группы сравнения (100,50 (76,51÷120,00) пг/мл), $p>0,05$.

Исходное количество антральных фолликулов яичников по данным трансвагинального УЗИ у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом составило 7,50 (5,00÷10,00), что было значимо ниже, чем у пациенток группы сравнения - 11,50 (10,00÷14,00), $p < 0,001$ (рисунок 11).

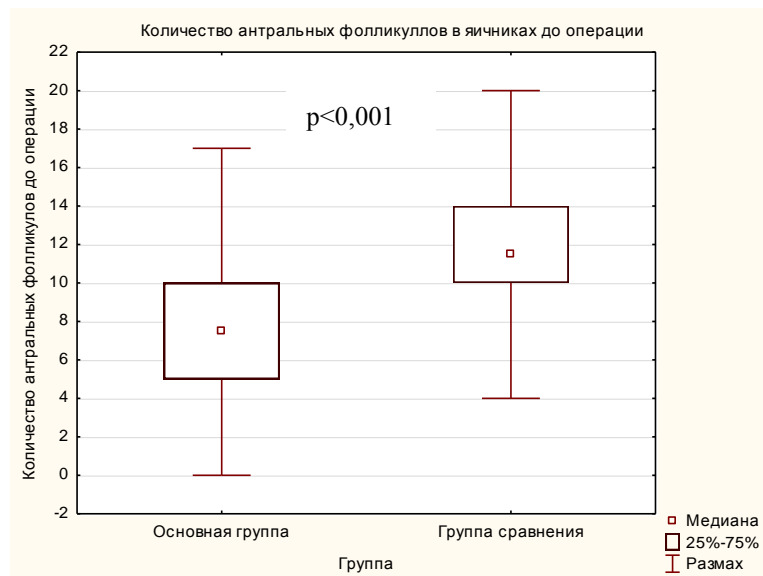


Рисунок 11 – Количество антральных фолликулов у пациенток групп наблюдения на дооперационном этапе, Me (P25÷P75)

При оценке влияния эндометриомы яичника на овариальный резерв у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, было выявлено, что уровень АМГ был значимо ниже, чем в группе сравнения, как у пациенток основной группы с наличием эндометриомы яичника (2,10 (0,73÷2,83) нг/мл), так и у пациенток без эндометриомы яичника (2,15 (1,16÷3,13) нг/мл), $p = 0,003$ и $p = 0,010$, соответственно (таблица 19). Различия в уровне АМГ между пациентками основной группы с наличием эндометриомы и без эндометриомы не достигли статистической значимости, $p > 0,05$ (рисунок 12).

Таблица 19 - Исходное состояние овариального резерва у пациенток групп наблюдения в зависимости от наличия эндометриомы яичника, Ме (P25÷P75)*

Показатель	Основная группа с эндометриомой яичника (n=30)	Основная группа без эндометриомы яичника (n=40)	Группа сравнения (n=50)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	
Антимюллеров гормон, нг/мл	2,10 (0,73÷2,83)	2,15 (1,16÷3,13)	2,58 (1,98÷4,57)	$p_{1-2}=0,553$ $p_{1-3}=0,003$ $p_{2-3}=0,010$
Фолликулостимулирующий гормон, мМЕ/мл	7,44 (4,55÷9,95)	6,21 (3,89÷8,49)	5,15 (3,53÷6,54)	$p_{1-2}=0,275$ $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,014$
Эстрадиол, пг/мл	92,12 (40,93÷121,00)	96,55 (73,71÷124,81)	100,50 (76,51÷120,00)	NS
Количество антральных фолликулов в яичниках	5,00 (4,00÷6,00)	9,50 (7,00÷12,00)	11,50 (10,00÷14,00)	$p_{1-2}<0,001$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=0,010$

*С учетом поправки Бонферони, значимые отличия принимались при $p<0,017$

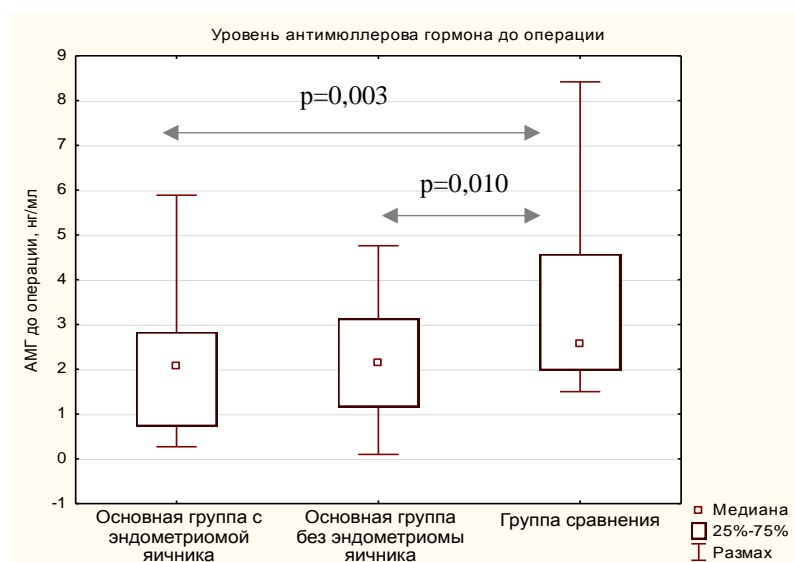


Рисунок 12 - Уровень антимюллера гормона у пациенток групп наблюдения на дооперационном этапе в зависимости от наличия эндометриомы яичника, Ме (P25÷P75)

Уровень ФСГ на дооперационном этапе был значимо выше, чем в группе сравнения, как у пациенток основной группы с наличием эндометриомы яичника (7,44 (4,55÷10,44) мМЕ/мл), так и у пациенток без эндометриомы яичника (6,21 (3,89÷8,49) мМЕ/мл), $p=0,001$ и $p=0,014$, соответственно. Не было выявлено значимых различия в исходном уровне ФСГ между пациентками основной группы с наличием эндометриомы и без эндометриомы яичника, $p>0,05$ (рисунок 13).

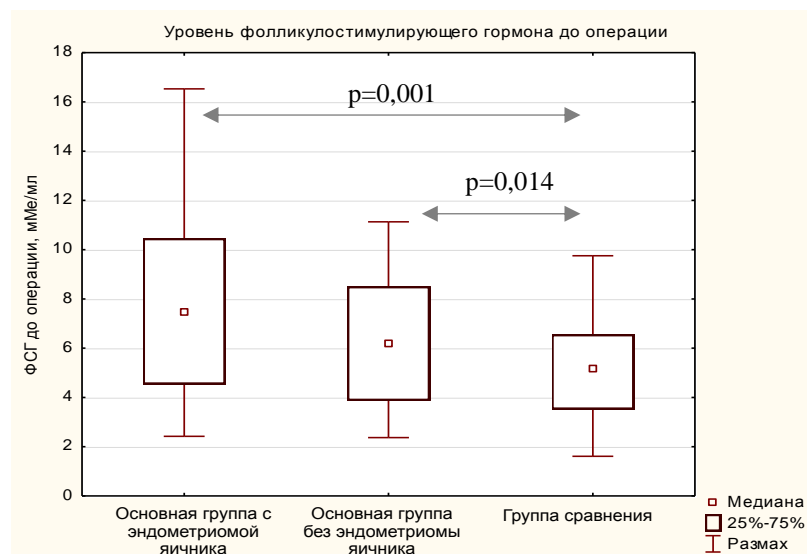


Рисунок 13 - Уровень фолликулостимулирующего гормона у пациенток групп наблюдения на дооперационном этапе в зависимости от наличия эндометриомы яичника, Ме (P25÷P75)

Исходное количество антральных фолликулов яичников по данным трансвагинального УЗИ у пациенток с сочетанием глубокого инфильтративного эндометриоза и эндометриомы яичника составило 5,00 (4,00÷6,00), что было значимо ниже, чем у пациенток основной группы без эндометриомы яичника (9,50 (7,00÷12,00), $p<0,001$) и пациенток группы сравнения ($p<0,001$). Несмотря на это, различия в количестве антральных фолликулов в яичниках между пациентками основной группы без эндометриомы яичника и группы сравнения также были статистически значимы, $p=0,010$ (рисунок 14).

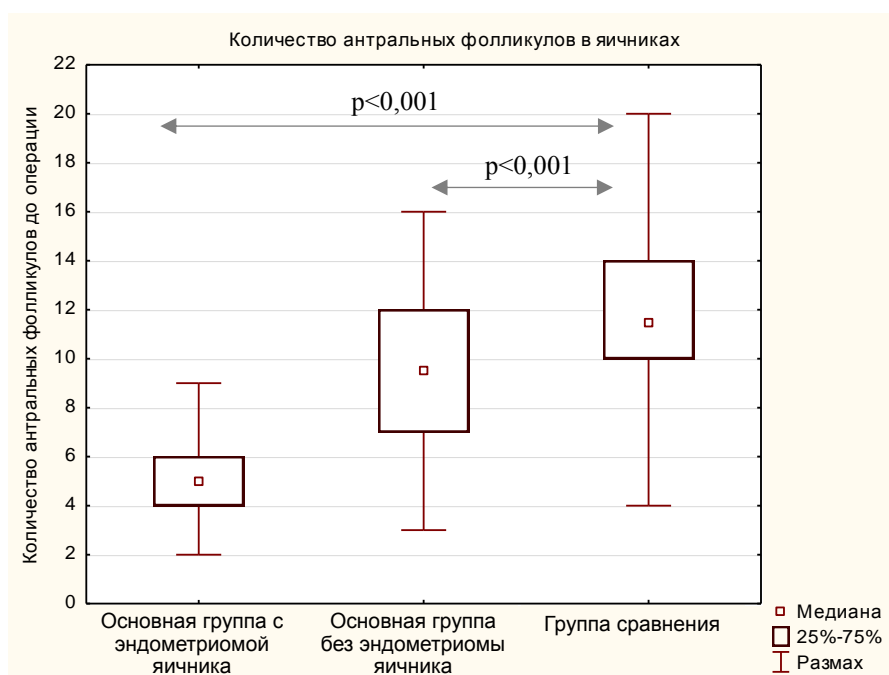


Рисунок 14 – Количество антральных фолликулов в яичниках у пациенток групп наблюдения на дооперационном этапе в зависимости от наличия эндометриомы яичника, Me (P25÷P75)

С целью оценки влияния возраста пациенток в группах наблюдения на уровень овариального резерва был проведен корреляционный анализ. Проведенный анализ показал отсутствие четкой корреляционной связи между возрастом пациенток и дооперационным уровнем АМГ в сыворотке крови у пациенток как основной группы ($r=-0,266$), так и группы сравнения ($r=-0,231$) (рисунки 15,16). Также в обеих исследуемых группах не было значимой корреляции между возрастом и дооперационным уровнем фолликулостимулирующего гормона в сыворотке крови ($r=0,103$ в основной группе, $r=0,176$ в группе сравнения), уровнем эстрадиола ($r=-0,268$ в основной группе, $r=-0,020$ в группе сравнения), а также количеством антральных фолликулов в яичниках ($r=-0,238$ в основной группе, $r=-0,283$ в группе сравнения).

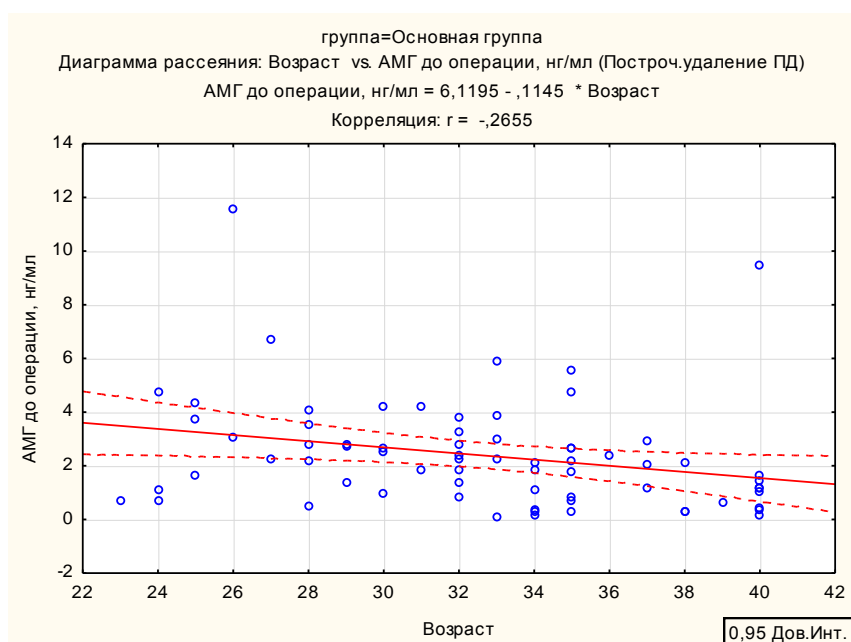


Рисунок 15 – Корреляционная связь между возрастом пациенток основной группы и дооперационным уровнем антимюллера гормона

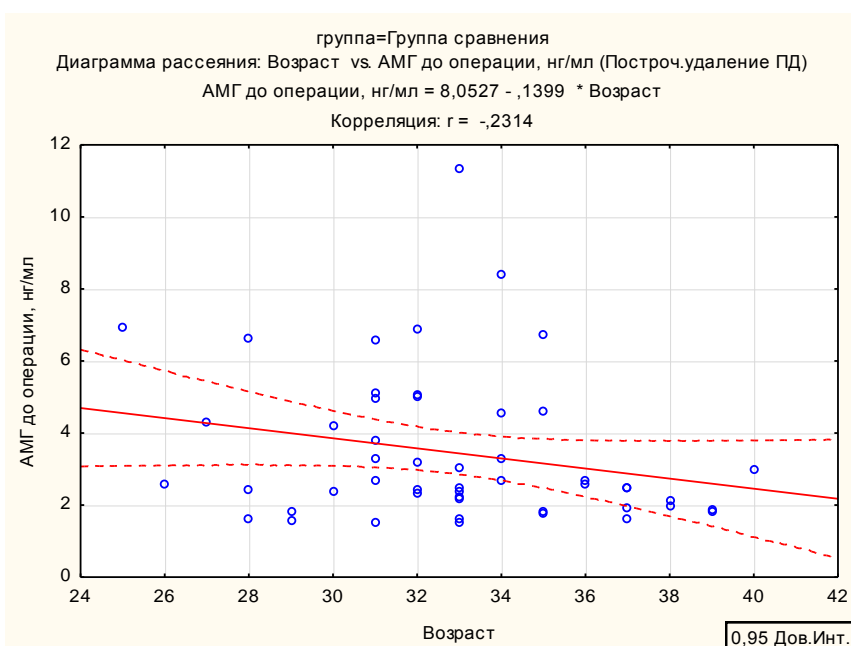


Рисунок 16 – Корреляционная связь между возрастом пациенток группы сравнения и дооперационным уровнем антимюллера гормона

Динамика изменения параметров овариального резерва у пациенток групп наблюдения после хирургического лечения представлена в таблицах 20-21.

Таблица 20 – Динамика изменения параметров овариального резерва у пациенток основной группы после хирургического лечения, Me (P25÷P75)

Показатель	Основная группа (n=70)		Уровень значимости различий, p
	До операции	После операции	
Антимюллеров гормон, нг/мл	2,13 (0,96÷2,99)	1,18 (0,51÷2,08)	<0,001
Фолликулостимулирующий гормон, мМЕ/мл	6,60 (4,26÷9,37)	7,43 (5,69÷9,61)	0,008
Эстрадиол, пг/мл	96,55 (58,10÷121,62)	92,51 (59,88÷116,24)	NS
Количество антральных фолликулов в яичниках	7,50 (5,00÷10,00)	6,00 (4,00÷9,00)	0,001

Таблица 21 – Динамика изменения параметров овариального резерва у пациенток группы сравнения после хирургического лечения, Me (P25÷P75)

Показатель	Группа сравнения (n=50)		Уровень значимости различий, p
	До операции	После операции	
Антимюллеров гормон, нг/мл	2,58 (1,98÷4,57)	2,51 (1,68÷4,12)	NS
Фолликулостимулирующий гормон, мМЕ/мл	5,15 (3,53÷6,54)	6,05 (4,10÷7,00)	NS
Эстрадиол, пг/мл	100,50 (76,51÷120,00)	104,62 (61,62÷120,00)	NS
Количество антральных фолликулов в яичниках	11,50 (10,00÷14,00)	11,00 (9,00÷14,00)	NS

При оценке состояния овариального резерва через 6 месяцев после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза отмечалось значимое снижение уровня АМГ в сыворотке крови (1,18 (0,51÷2,08) нг/мл) в сравнении с исходным показателем (2,13 (0,96÷2,99) нг/мл), $p < 0,001$ (рисунок 16).



Рисунок 16 – Динамика изменения уровня антимюллера гормона у пациенток основной группы после хирургического лечения, Me (P25÷P75)

Уровень АМГ значительно снизился как у пациенток, перенесших кистэктомия эндометриомы яичника (1,00 (0,44÷1,79) нг/мл в сравнении с исходным уровнем 2,10 (0,73÷2,83) нг/мл, $p < 0,001$), так и у пациенток с интактными яичниками (1,59 (0,90÷2,78) нг/мл в сравнении с исходным уровнем 2,15 (1,16÷3,13) нг/мл, $p < 0,001$) (таблицы 22-23).

Таблица 22 – Динамика изменения параметров овариального резерва у пациенток основной группы с наличием эндометриомы яичника после хирургического лечения, Me (P25÷P75)

Показатель	Основная группа с эндометриомой яичника (n=30)		Уровень значимости различий, p
	До операции	После операции	
Антимюллеров гормон, нг/мл	2,10 (0,73÷2,83)	1,00 (0,44÷1,79)	<0,001
Фолликулостимулирующий гормон, мМЕ/мл	7,44 (4,55÷9,95)	8,52 (6,21÷9,75)	NS
Эстрадиол, пг/мл	92,12 (40,93÷121,00)	74,87 (54,31÷107,00)	NS
Количество антральных фолликулов в яичниках	5,00 (4,00÷6,00)	4,50 (3,00÷7,00)	NS

Таблица 23 – Динамика изменения параметров овариального резерва у пациенток основной группы без эндометриомы яичника после хирургического лечения, Ме (P25÷P75)

Показатель	Основная группа без эндометриомы яичника (n=40)		Уровень значимости различий, p
	До операции	После операции	
Антимюллеров гормон, нг/мл	2,15 (1,16÷3,13)	1,59 (0,90÷2,78)	<0,001
Фолликулостимулирующий гормон, мМЕ/мл	6,21 (3,89÷8,49)	6,97 (5,40÷8,20)	0,031
Эстрадиол, пг/мл	96,55 (73,71÷124,81)	101,71 (70,58÷128,97)	NS
Количество антральных фолликулов в яичниках	9,50 (7,00÷12,00)	7,50 (5,00÷8,25)	<0,001

После проведенного хирургического лечения отмечено статистически значимое повышение уровня фолликулостимулирующего гормона у пациенток основной группы (7,43 (5,69÷9,61) мМЕ/мл) по сравнению с исходным уровнем (6,60 (4,26÷9,37) мМЕ/мл), $p=0,008$.

Количество антральных фолликулов в яичниках по данным УЗИ также значимо снизилось после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза, составив 6,00 (4,00÷9,00) в сравнении с исходным показателем 7,50 (5,00÷10,00), $p=0,001$ (рисунок 17). Стоит отметить, что послеоперационное число антральных фолликулов в яичниках значимо не изменилось после хирургического лечения у пациенток основной группы, перенесших цистэктомию эндометриомы (4,50 (3,00÷7,00) в сравнении с исходным показателем 5,00 (4,00÷6,00), $p>0,05$). Напротив, у пациенток основной группы без эндометриоидных кист яичников отмечено значимое снижение количества антральных фолликулов в яичниках после хирургического лечения (7,50 (5,00÷8,25) по сравнению с исходным количеством 9,50 (7,00÷12,00), $p<0,001$).

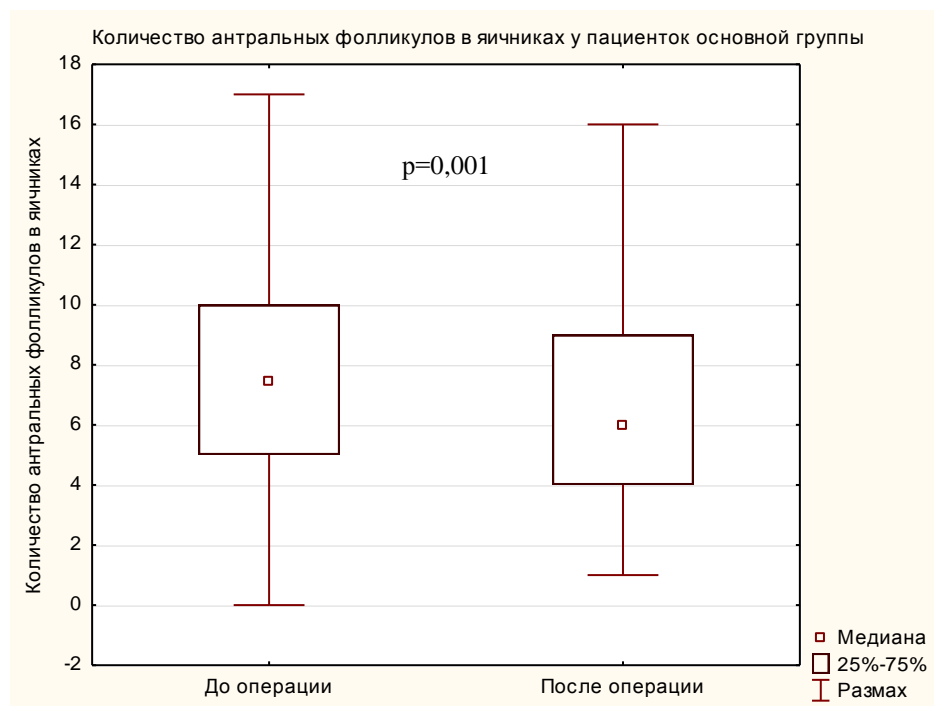


Рисунок 17 – Динамика изменения количества антральных фолликулов у пациенток основной группы после хирургического лечения, Me (P25÷P75)

У пациенток группы сравнения показатели овариального резерва остались неизменными через 6 месяцев после проведенного хирургического лечения (таблица 21).

2.3.3. Клинические особенности пациенток со значимым снижением овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза

На втором этапе исследования с целью поиска предикторов послеоперационного снижения овариального резерва пациентки, прооперированные по поводу глубокого инфильтративного эндометриоза, были разделены на две группы: в первую группу вошли 30 пациенток со статистически значимым снижением овариального резерва через 6 месяцев после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза. Вторую группу составили 30 пациенток без статистически значимого снижения овариального резерва через 6 месяцев после хирургического лечения глубокого

инфильтративного эндометриоза, подобранные методом копи-пар к пациенткам первой группы.

Оценка статистически значимого снижения овариального резерва у пациенток основной группы на втором этапе исследования велась с помощью перестановочного критерия и построения доверительных интервалов медианных значений бустрапных выборок. Из выборок параметров АМГ и КАФ было создано 100000 выборок методом бустрап и для каждой из них рассчитаны медианы. Для рассчитанных медиан построены 95% доверительные интервалы. Для оценки разницы овариального резерва между группами до и после операции была рассчитана разница медианных значений групп по обоим показателям. Для показателя АМГ значимая разница составила 0,77 нг/мл, для показателя КАФ - 3. Таким образом, выявление у пациенток основной группы разницы между дооперационным и послеоперационным уровнем АМГ равно/более 0,77 нг/мл либо уровнем КАФ равной/более 3 позволяло отнести их в первую группу на втором этапе исследования, пациентки с разницей АМГ менее 0,77 и КАФ менее 3 были отнесены во вторую группу на втором этапе исследования.

Пациентки исследуемых групп были сопоставимы по возрасту и антропометрическим данным (таблица 24). Средний возраст женщин в группах составил $31,90 \pm 4,01$ года в первой группе и $33,20 \pm 5,25$ года во второй группе, $p > 0,05$.

Таблица 24 – Средний возраст и антропометрические данные пациенток исследуемых групп, $M \pm m$

Показатели	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
Возраст, лет	$31,90 \pm 4,01$	$33,20 \pm 5,25$	NS
Масса тела, кг	$59,57 \pm 10,12$	$63,02 \pm 11,48$	NS
Рост, см.	$164,47 \pm 7,27$	$165,48 \pm 5,28$	NS
ИМТ	$21,97 \pm 3,15$	$22,98 \pm 3,83$	NS

Половина пациенток групп наблюдения относилась к возрастному периоду от 30 до 35 лет как в группе женщин со значимым послеоперационным снижением овариального резерва (15/30, 50%), так и в группе женщин без значимого послеоперационного снижения овариального резерва (15/30, 50,0%), $p > 0,05$ (таблица 25).

Таблица 25 - Распределение пациенток основной группы и группы сравнения по возрастным периодам, %

Возрастной период	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)		Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
До 30 лет	9	30,0	9	30,0	0,0	1,000	1,000	0,331	3,017
30-35 лет	15	50,0	15	50,0	0,0	1,000	1,000	0,363	2,751
36-40 лет	6	20,0	6	20,0	0,0	1,000	1,000	0,282	3,544

Практически все пациентки групп наблюдения родились доношенными – 30/30 (100,0%) женщин первой группы и 29/30 (96,7%) женщин второй группы, $p > 0,05$. Медианы массы тела при рождении не различались в группах, составив 3350,0 (3200,0÷3350,0) грамм в первой группе и 3350,0 (3350,0÷3500,0) грамм во второй группе, $p > 0,05$ (таблица 26).

Таблица 26 - Масса тела при рождении и доля пациенток, рожденных от срочных родов, Me (P25÷P75)

Показатели	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
Родились доношенными, n (%)	30 (100,0%)	29 (96,7%)	NS
Масса тела при рождении, г	3350,0 (3200,0÷3350,0)	3350,0 (3350,0÷3500,0)	NS

Не выявлено значимых различий в особенностях социального статуса, характере соматической патологии и структуре жалоб между пациентками,

перенесшими хирургическое лечение глубокого инфилтративного эндометриоза, в зависимости от уровня послеоперационного снижения овариального резерва.

Особенности становления менструальной функции и менструального цикла в группах наблюдения представлены в таблице 27. Не было выявлено значимых различий по возрасту менархе, продолжительности менструального цикла и менструального кровотечения у пациенток с глубоким инфилтративным эндометриозом в зависимости от послеоперационного снижения овариального резерва, ($p > 0,05$ для всех показателей).

Таблица 27 - Характеристика становления менструальной функции и особенности менструального цикла пациенток групп наблюдения, Me (P25÷P75)

Показатели	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
Возраст менархе, лет	13,0 (12,0÷14,0)	13,0 (12,0÷13,25)	NS
Продолжительность менструального цикла, дни	28,0 (28,0÷28,0)	28,0 (27,0÷28,0)	NS
Длительность менструации, дни	5,0 (4,0÷6,0)	5,0 (5,0÷6,0)	NS

При оценке акушерского анамнеза выявлено, что хотя бы одна беременность в анамнезе наблюдалась у 12/30 (40,0%) пациенток первой группы, при этом у 9/30 (30,0%) она закончилась родами, тогда как во второй группе 19/30 (63,3%) женщин имели в анамнезе беременности, закончившиеся родами у 15/30 (50%) женщин, однако различие между группами не достигло статистической значимости $p > 0,05$. В свою очередь, частота встречаемости срочных родов была статистически значимо ниже у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва (7/30, 23,3%), чем у пациенток без послеоперационного снижения овариального резерва (15/20, 50%), $p = 0,033$. 6,7% (2/30) женщин первой группы имели в анамнезе преждевременные роды, в то время как у пациенток второй группы все роды были срочными, $p > 0,05$. Не было статистически значимых различий по частоте встречаемости медицинских

абортов, самопроизвольных выкидышей, неразвивающихся и эктопических беременностей у пациенток обеих групп, $p > 0,05$ (таблица 28).

Таблица 28 – Акушерский анамнез пациенток групп наблюдения, %

Показатели	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)		Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Беременности в анамнезе	12	40,0	19	63,3	3,270	0,071	0,386	0,136	1,094
Роды в анамнезе	9	30,0	15	50,0	2,500	0,114	0,429	0,149	1,236
Срочные роды	7	23,3	15	50,0	4,593	0,033	0,304	0,100	0,922
Преждевременные роды	2	6,7	0	0,0	2,069	0,151	1,071	0,974	1,179
Медицинские аборты	6	20,0	3	10,0	1,176	0,279	2,250	0,507	9,994
Самопроизвольные выкидыши	3	10,0	1	3,3	1,071	0,301	3,222	0,316	32,891
Неразвивающиеся беременности	1	3,3	4	13,3	1,964	0,162	0,224	0,024	2,136
Эктопические беременности	1	3,3	0	0,0	1,017	0,314	1,034	0,968	1,106

Характер гинекологических заболеваний, перенесенных ранее обследованными пациентками, приведен в таблице 29. При оценке гинекологического анамнеза было выявлено, что эктопия шейки матки встречалась значимо реже у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва (2/30, 6,7%), чем у пациенток без выраженного послеоперационного снижения овариального резерва (9/30, 30,0%), $p = 0,020$. Не было статистически значимых различий по частоте встречаемости других гинекологических заболеваний в двух группах.

Таблица 29 - Гинекологический анамнез пациенток исследуемых групп, %

Группа заболеваний	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)		Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Инфекции, передающиеся половым путем (A50-A64)	0	0,0	1	3,3	1,017	0,314	0,975	0,928	1,025
Эктопия шейки матки (N86)	2	6,7	9	26,7	5,455	0,020	0,167	0,033	0,853
Дисплазия шейки матки (N87)	1	3,3	2	6,7	0,351	0,554	0,483	0,041	5,628
Врожденные пороки развития внутренних половых органов (Q50-Q56)	3	10,0	3	10,0	0,0	1,000	1,000	0,185	5,403
Хронический эндометрит (N71.1)	1	3,3	1	3,3	0,0	1,000	1,000	0,060	16,764
Внутриматочные синехии (N85.6)	6	20,0	5	16,7	0,111	0,739	1,250	0,336	4,644
Гиперпластические заболевания эндометрия (N84.0, N85.0)	8	26,7	10	33,3	0,317	0,574	0,727	0,240	2,206
Миома матки (D25)	1	3,3	3	10,0	1,071	0,301	0,310	0,030	3,168
Аденомиоз (N80.0)	0	0,0	1	3,3	1,017	0,314	0,975	0,928	1,025
Хронический аднексит (N70.1)	0	0,0	2	6,7	2,069	0,151	0,950	0,885	1,020

Пациентки с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва значимо чаще страдали бесплодием (19/30, 63,3%), чем пациентки второй группы (11/30, 36,7%), $p=0,039$. В структуре бесплодия преобладало первичное бесплодие, которое также статистически чаще встречалось у пациенток первой группы (16/30, 53,3%) по сравнению с пациентками второй группы (6/30, 20,0%), $p=0,008$. Не было выявлено значимых различий по частоте применения вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе между пациентками исследуемых групп, $p>0,05$ (таблица 30).

Таблица 30 - Структура бесплодия в группах наблюдения, %

Показатели	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)		Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Бесплодие в целом	19	63,3	11	36,7	4,267	0,039	2,983	1,044	8,527
Первичное бесплодие	16	53,3	6	20,0	7,177	0,008	4,571	1,452	14,389
Вторичное бесплодие	4	13,3	7	23,3	1,002	0,317	0,505	0,131	1,951
Вспомогательные репродуктивные технологии в анамнезе	6	20,0	4	13,3	0,480	0,489	1,625	0,408	6,469
Повторные неудачи вспомогательных репродуктивных технологий	5	16,7	2	6,7	1,456	0,228	1,625	0,408	6,469

При анализе данных структуры гинекологических оперативных вмешательств в группах наблюдения не выявлено статистически значимых различий в частоте хирургических вмешательств на яичниках в анамнезе у пациенток двух групп (5/30 (16,7%) в первой группе против 9/30 (30,0%) во второй группе), $p > 0,05$. 4/30 (13,0%) пациенток первой группы и 8/30 (26,7%) пациенток второй группы перенесли хирургическое лечение эндометриом яичников в анамнезе, $p > 0,05$. Хирургическое иссечение очагов эндометриоза в анамнезе отмечалось у 1/30 (3,3%) пациенток первой группы и у 4/30 (13,3%) пациенток второй группы, $p > 0,05$. При оценке анамнеза других гинекологических операций значимых различий в двух группах также выявлено не было (таблица 31).

Таблица 31 - Частота встречаемости и структура гинекологических операций у пациенток исследуемых групп, %

Показатели	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)		Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
Операции на яичниках	5	16,7	9	30,0	1,491	0,223	0,467	0,135	1,609
Резекция яичника	1	3,3	0	0,0	1,017	0,314	1,034	0,968	1,106
Кистэктомия эндометриомы яичника	4	13,3	8	26,7	1,667	0,197	0,423	0,112	1,596
Кистэктомия других кист яичников	0	0,0	1	3,3	1,017	0,314	0,975	0,928	1,025
Диагностическая лапароскопия	4	13,3	3	10,0	0,162	0,688	1,385	0,282	6,796
Адгезиолизис	1	3,3	3	10,0	1,071	0,301	0,310	0,030	3,168
Иссечение очагов эндометриоза	1	3,3	4	13,3	1,964	0,162	0,224	0,024	2,136
Сальпингэктомия	1	3,3	3	10,0	1,071	0,301	0,310	0,030	3,168
Миомэктомия	0	0,0	1	3,3	1,017	0,314	0,975	0,928	1,025
Гистероскопия	7	23,3	8	26,7	0,089	0,766	0,837	0,260	2,699
Иссечение внутриматочной перегородки	2	6,7	0	0,0	2,069	0,151	1,071	0,974	1,179
Рассечение внутриматочных синехий	1	3,3	0	0,0	1,017	0,314	1,034	0,968	1,106

Средний временной промежуток от момента появления первых субъективных симптомов глубокого инфильтративного эндометриоза до включения пациенток в исследование не различался между группами, составив $3,24 \pm 2,90$ лет в первой группе и $3,96 \pm 3,82$ лет в группе сравнения, $p > 0,05$. Однако, обращает на себя внимание меньший промежуток времени от момента установки диагноза глубокого инфильтративного эндометриоза до хирургического лечения, более объективный критерий, подтвержденный документально, у пациенток первой группы.

У пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва диагноз инфильтративного эндометриоза впервые был установлен в среднем за 2 года до хирургического лечения ($1,99 \pm 3,53$ лет), тогда как пациенткам без значимого снижения овариального резерва диагноз

инфильтративного эндометриоза был установлен менее чем за один год до операции, ($0,69 \pm 1,22$ лет); $p=0,035$, что может иметь значение в аспекте длительности влияния эндометриозной болезни на овариальную ткань (таблица 32).

Таблица 32 - Длительность течения заболевания у пациенток исследуемых групп, $M \pm m$

Показатели	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
Время с момента появления симптомов заболевания до хирургического лечения, лет	$3,24 \pm 2,90$	$3,96 \pm 3,82$	0,377
Промежуток между появлением симптомов заболевания до установки диагноза, лет	$2,55 \pm 2,87$	$1,97 \pm 2,48$	0,375
Время с момента установки диагноза до хирургического лечения, лет	$1,99 \pm 3,53$	$0,69 \pm 1,22$	0,035

Не выявлено значимых различий в локализации иссеченных эндометриозных очагов между пациентками с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва и пациентками без послеоперационного снижения овариального резерва (таблица 33).

Таблица 33 – Локализация эндометриоидных инфильтратов у пациенток исследуемых групп, %

Локализация	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)		Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)		Уровень значимости различий, p
	n	%	n	%	
Ректовагинальная перегородка	25	83,3	24	80,0	NS
Крестцово-маточные связки	23	76,7	24	80,0	NS
Шейка матки	8	26,7	6	20,0	NS
Стенка влагалища	1	3,3	2	6,67	NS
Ректосигмоидный отдел толстой кишки	7	23,3	4	13,3	NS
Подвздошная кишка	1	3,3	1	3,3	NS
Аппендикс	0	0,0	1	3,3	NS
Передне-маточное пространство	7	23,3	9	30,0	NS
Мочевой пузырь	1	3,3	4	13,3	NS
Мочеточники	0	0,00	3	10,0	NS
Круглая маточная связка	2	6,7	3	10,0	NS

Особенности хирургического вмешательства у пациенток исследуемых групп представлены в таблице 34. Величина кровопотери, длительность операции, среднее количество и размеры иссеченных очагов эндометриоза статистически значимо не различались в группах наблюдения. Средняя балльная оценка тяжести эндометриоза по классификационной схеме Американского общества фертильности R-AFS составила $56,7 \pm 20,6$ баллов в первой группе и $55,9 \pm 24,5$ баллов во второй группе, $p > 0,05$. Индекс фертильности при эндометриозе (EFI) также значимо не различался у пациенток двух групп, составив $5,4 \pm 1,8$ баллов в первой группе и $5,5 \pm 1,8$ баллов во второй группе, $p > 0,05$.

Иссечение очагов глубокого инфильтративного эндометриоза сочеталось с цистэктомией эндометриомы яичника у 13/30 (43,3%) пациенток первой и второй групп, $p > 0,05$.

Таблица 34 – Особенности хирургического вмешательства у пациенток исследуемых групп, $M \pm m$

Показатели	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
Длительность операции, мин	77,3±41,6	79,4±58,2	NS
Интраоперационная кровопотеря, мл	72,0±66,0	55,8±45,3	NS
Длина доминантного эндометриоидного очага, мм	17,6±4,6	19,2±5,2	NS
Ширина доминантного эндометриоидного очага, мм	14,1±4,8	15,8±5,1	NS
Толщина доминантного эндометриоидного очага, мм	10,7±4,3	12,8±5,7	NS
Оценка распространенности очагов R-AFS, баллы	35,1±17,6	32,8±16,4	NS
Оценка тяжести спаечного процесса R-AFS, баллы	21,6±8,2	23,1±13,0	NS
Общая оценка тяжести эндометриоза R-AFS, баллы	56,7±20,6	55,9±24,5	NS
Индекс фертильности (EFI), баллы	5,4±1,8	5,5±1,8	NS

Характеристика эндометриом яичников у пациенток двух групп представлена в таблице 35, которая наглядно демонстрирует отсутствие значимых различий в размерах и локализации кист, а также наличии рецидива эндометриомы между пациентками с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва и пациентками без выраженного снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза.

Таблица 35 – Характеристика эндометриом яичников у пациенток исследуемых групп, $M \pm m$

Показатели	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
Максимальный диаметр кисты яичника, см	4,42±1,59	5,26±1,73	NS
Односторонняя эндометриома яичника, n (%)	10 (33,3)	10 (33,3)	NS
Двусторонние эндометриомы яичников, n (%)	3 (10,0)	3 (10,0)	NS
Впервые выявленная эндометриома, n (%)	10 (33,3)	7 (23,3)	NS
Рецидив эндометриомы яичника, n (%)	3 (10,0)	5 (16,7)	NS

Пациентки групп наблюдения были сопоставимы по исходному состоянию овариального резерва. На дооперационном этапе у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, чей овариальный резерв значимо снизился после хирургического лечения, уровень антимюллера гормона в сыворотке крови составил 2,19 (1,07÷3,20) нг/мл, у пациенток без значимого послеоперационного снижения овариального резерва - 2,06 (0,98÷2,88) нг/мл, $p > 0,05$ (таблица 36).

Исходный уровень ФСГ в сыворотке крови также статистически значимо не различался у пациенток первой (6,69 (3,53÷9,51) мМЕ/мл) и второй (6,48 (4,68÷8,97) мМЕ/мл) групп, $p > 0,05$. Также не было статистически значимых различий в уровне эстрадиола в сыворотке крови на дооперационном этапе между пациентками первой (98,14 (58,10÷122,00) пг/мл) и второй (96,53 (61,13÷112,66) пг/мл) групп, $p > 0,05$.

Исходное количество антральных фолликулов по данным трансвагинального УЗИ составило 7,50 (5,50÷10,00) у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва и 7,00 (5,50÷9,50) у

пациенток без выраженного снижения овариального резерва после операции, $p > 0,05$.

Таблица 36. Исходное состояние овариального резерва у пациенток групп наблюдения, Me (P25÷P75)

Показатель	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
Антимюллеров гормон, нг/мл	2,19 (1,07÷3,20)	2,06 (0,98÷2,88)	NS
Фолликулостимулирующий гормон, мМЕ/мл	6,69 (3,53÷9,51)	6,48 (4,68÷8,97)	NS
Эстрадиол, пг/мл	98,14 (58,10÷122,00)	96,53 (61,13÷112,66)	NS
Количество антральных фолликулов в яичниках	7,50 (5,50÷10,00)	7,00 (5,50÷9,50)	NS

Динамика изменения параметров овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток исследуемых групп представлена в таблицах 37 и 38. В отличие от уровня антимюллерова гормона в крови и количества антральных фолликулов в яичниках, которые значимо снизились у пациенток первой группы после хирургического лечения, сывороточные уровни фолликулостимулирующего гормона и эстрадиола в крови статистически значимо не изменились у пациенток обеих исследуемых групп.

Таблица 37 – Динамика изменения параметров овариального резерва у пациенток первой группы после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза, Me (P25÷P75)

Показатель	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)		Уровень значимости различий, p
	До операции	После операции	
Антимюллеров гормон, нг/мл	2,19 (1,07÷3,20)	0,92 (0,46÷1,56)	<0,001
Фолликулостимулирующий гормон, мМЕ/мл	6,69 (3,53÷9,51)	7,41 (5,89÷9,00)	NS
Эстрадиол, пг/мл	98,14 (58,10÷122,00)	98,38 (56,20÷128,60)	NS
Количество антральных фолликулов в яичниках	7,50 (5,50÷10,00)	5,00 (3,50÷7,50)	<0,001

Таблица 38 – Динамика изменения параметров овариального резерва у пациенток второй группы после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза, Me (P25÷P75)

Показатель	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)		Уровень значимости различий, p
	До операции	После операции	
Антимюллеров гормон, нг/мл	2,06 (0,98÷2,88)	1,88 (0,92÷2,74)	NS
Фолликулостимулирующий гормон, мМЕ/мл	6,48 (4,68÷8,97)	7,70 (5,59÷9,76)	NS
Эстрадиол, пг/мл	96,53 (61,13÷112,66)	88,49 (63,36÷112,69)	NS
Количество антральных фолликулов в яичниках	7,00 (5,50÷9,50)	7,00 (6,00÷9,00)	NS

Резюме

В группах наблюдения женщины были сопоставимы по возрасту, антропометрическим данным и социальному статусу, большинство из них родились доношенными.

Наиболее характерными жалобами пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом являлись хроническая тазовая боль (ОШ 44,00 (95%ДИ 14,878; 130,125); p=0,001), дисменорея (ОШ 3,235 (95%ДИ 1,488; 7,035); p=0,03),

диспареуния (ОШ 6,00 (95%ДИ 1,298; 1,367); $p=0,011$) и бесплодие (ОШ 1,892 (95%ДИ 1,516; 2,360); $p=0,001$). Болезненный характер менструаций выявлен более, чем у половины пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом 39/70 (55,7%). При этом возраст менархе и длительность менструального кровотечения в группах наблюдения не имели достоверных различий. Значимым клиническим проявлением инфильтративного эндометриоза являлась более короткая продолжительность менструального цикла у пациенток основной группы. Этим объясняется тот факт, что пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом значимо чаще страдали хронической анемией, чем пациентки группы сравнения (ОШ 1,111 (95%ДИ 1,028; 1,201); $p=0,021$).

Пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом имели значимо меньшее число беременностей (ОШ 0,529 (95%ДИ 0,659; 0,423); $p=0,001$) и родов (ОШ 0,414 (95%ДИ 0,547; 0,313); $p=0,001$) в своей жизни. У каждой третьей из них, наступившая беременность была единственной 21/70 (30,0%), а около половины 34/70 (48,6%) страдали бесплодием, в структуре которого преобладало первичное эндометриоз-ассоциированное бесплодие (ОШ 6,00 (95%ДИ 1,929; 18,661); $p=0,001$), что потребовало более частого, чем в группе сравнения, применения методов вспомогательных репродуктивных технологий (ОШ 9,14 (95%ДИ 1,139; 73,263); $p=0,01$). Важно отметить, что не было выявлено статистически значимых различий в частоте хирургических вмешательств на яичниках в анамнезе у пациенток в группах наблюдения (ОШ 2,352 (95%ДИ 0,854; 6,477); $p>0,05$).

В структуре гинекологической патологии у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом значимо чаще, чем у пациенток группы сравнения, наблюдались эктопия шейки матки (ОШ 4,96 (95%ДИ 1,059; 23,28); $p=0,027$), врожденные пороки развития внутренних половых органов (ОШ 1,094 (95%ди 1,018; 1,175); $p=0,034$), а также миома матки (ОШ 3,857 (95%ДИ 1,342; 11,088); $p=0,009$).

Превалирующей локализацией эндометриoidных очагов у пациенток в группе с глубоким инфильтративным эндометриозом были ректовагинальная перегородка (82,9%) и крестцово-маточные связки (77,1%).

У пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом еще на дооперационном этапе отмечалось значимое снижение овариального резерва, в том числе уровня антимюллера гормона (2,13 (0,96÷2,99) нг/мл), количества антральных фолликулов (7,50 (5,00÷10,00) мМЕ/мл), а также значимо более высокий уровень фолликулостимулирующего гормона (6,60 (4,26÷9,37)) в сравнении со второй группой (2,58 (1,98÷4,57) нг/мл, 11,50 (10,00÷14,00) и 5,15 (3,53÷6,54) мМЕ/мл, соответственно) независимо от возраста и наличия эндометриомы яичника. Методом математического моделирования были выработаны критерии оценки значимости снижения овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом после проведения хирургического лечения, после чего были выделены соответствующие подгруппы.

Установлено, что пациентки с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва значимо чаще страдали бесплодием (ОШ 2,983 (95%ДИ 1,044; 8,527); $p=0,039$) и реже имели в анамнезе срочные роды (ОШ 0,304 (95%ДИ 0,100; 0,922); $p=0,033$), чем пациентки без выраженного послеоперационного снижения овариального резерва.

Важно отметить, что не было выявлено статистически значимых различий в частоте хирургических вмешательств на яичниках в анамнезе, а также в частоте других гинекологических операций у пациенток в зависимости от степени послеоперационного снижения овариального резерва ($p>0,05$). Таким образом, факт вмешательства на яичниках в анамнезе не определяет овариальный ответ на хирургическое лечение глубокого инфильтративного эндометриоза.

Выраженное послеоперационное снижение овариального резерва было отмечено у пациенток с большей длительностью течения заболевания, диагноз глубокого инфильтративного эндометриоза у которых был установлен в среднем

за 2 года до операции, тогда как пациенткам второй группы диагноз был установлен менее 1 года назад.

Пациентки групп наблюдения были сопоставимы по исходному состоянию овариального резерва. На дооперационном этапе уровни АМГ, ФСГ и эстрадиола в сыворотке крови, а также количество антральных фолликулов в яичниках при трансвагинальном УЗИ статистически значимо не различались у пациенток обеих групп.

Не выявлено значимых различий в локализации иссеченных эндометриоидных очагов, особенностях хирургического вмешательства, тяжести эндометриоза по классификации R-AFS, а также частоте цистэктомии эндометриомы яичника между пациентками с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва и пациентками без выраженного послеоперационного снижения овариального резерва ($p>0,05$).

Тем не менее, через 6 месяцев после хирургического лечения у пациенток первой группы было отмечено снижение медианы уровня АМГ в сыворотке крови более, чем на 1,2 нг/мл, тогда как во второй группе послеоперационный уровень АМГ снизился не более, чем на 0,2 нг/мл. Медиана количества антральных фолликулов в яичниках по данным трансвагинального УЗИ у пациенток первой группы снизилась на 2,5 после хирургического лечения, во второй группе данный показатель овариального резерва остался неизменным. Это диктует необходимость выявления новых критериев прогнозирования овариального ответа на хирургическое лечение глубокого инфильтративного эндометриоза, основанных на молекулярно-биологических механизмах его развития и прогрессирования.

Материалы 2 главы опубликованы в следующих работах:

1. **Окулова, Е.О.** Клинико-anamнестические особенности пациенток с распространенными формами наружного генитального эндометриоза / **Е.О. Окулова, О.А. Мелкозерова, А.А. Михельсон, Т.А. Путилова** // Лечение и профилактика. – 2020. - № 4. – С. 48-54.

2. **Окулова, Е.О.** Клинико-анамнестические предикторы сочетания глубокого инфильтративного эндометриоза и эндометриоидного поражения яичников / **Е.О. Окулова**, О.А. Мелкозерова, А.А. Михельсон, Т.А, Путилова // Малышевские чтения. Демографические вызовы современности в условиях пандемии COVID19: материалы VI Научно-практической конференции акушеров-гинекологов УФО в дистанционном режиме. – Екатеринбург, 2020. – С.62-63.
3. Melkozerova, O.A. The mechanisms of reducing ovarial reserve in deep infiltrative endometriosis without ovarian damage / O.A. Melkozerova, **Е.О. Okulova** // Women Health Care and Issues. – 2021. - Vol. 4, № 3. - P. 50-53.

ГЛАВА 3

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ СНИЖЕНИЯ
ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ
ГЛУБОКОГО ИНФИЛЬТРАТИВНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА****3.1. Исследование мутаций генов PI3K/АКТ/mTOR сигнального пути в тканях яичников у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом**

Методом секвенирования ДНК нового поколения осуществлен поиск мутаций гена *PIK3CA* в образцах тканей эндометриом яичников у пациенток с инфильтративным эндометриозом, сочетающимся с эндометриоидными кистами яичников (n=30), а также в биоптатах корковой ткани яичника у всех пациенток основной группы (n=70) и группы сравнения (n=50). Анализировали наиболее часто описанные в литературе активирующие мутации гена *PIK3CA*: с.1624G>A (p.E542K), с.1625A>G (p.E542G), с.1625A>T (p.E542V), с.1633G>A (p.E545K), с.1634A>G (p.E545G), с.1635G>T (p.E545D), с.1636C>G (p.Q546E), с.1636C>A (p.Q546K), с.1637A>C (p.Q546P), с.1637A>G (p.Q546R), с.3139C>T (p.H1047Y), с.3140A>T (p.H1047L), с.3140A>G (p.H1047R).

Выделены и проанализированы участки ДНК 10(9) экзона (1540-1664 последовательности нуклеотидов, 514-554 аминокислотные последовательности) и 21(20) экзона (3030-3185 последовательности нуклеотидов, 1011-1061 аминокислотные последовательности) гена *PIK3CA* по прямой и обратной последовательностям. Среднее количество прочтений по прямой и обратной последовательностям участков ДНК составило $1629,4 \pm 340,5$, что соответствует хорошему качеству прочтений (рисунки 18,19).

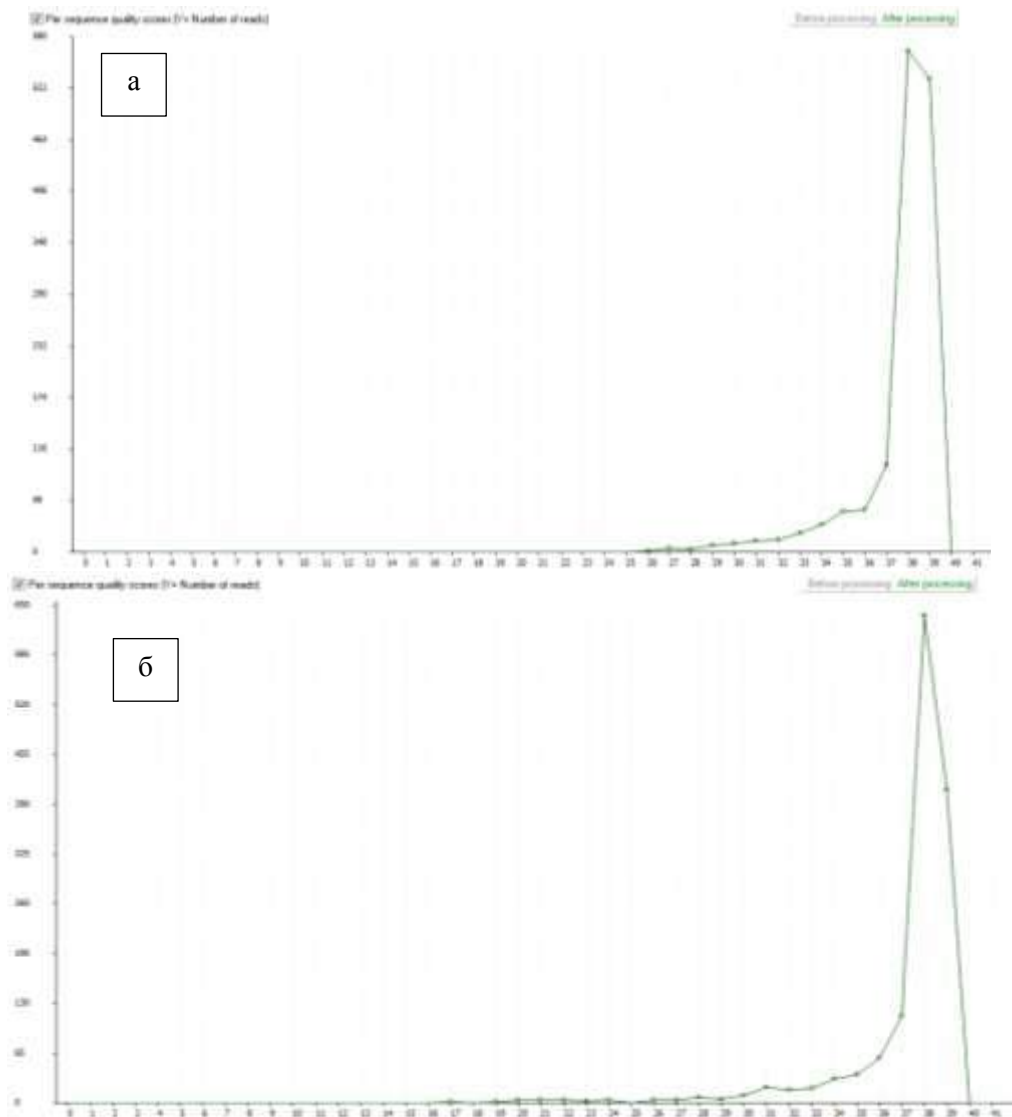


Рисунок 18 - Оценка качества прочтения прямой (а) и обратной (б) последовательностей ДНК 10 экзона (1540-1664 п.н) и части 21 экзона (3030 -3185 п.н.) гена *PIK3CA* (x - среднее качество чтения, y- количество считываний; выполнено с помощью программы NextGen Sequence Workbench).

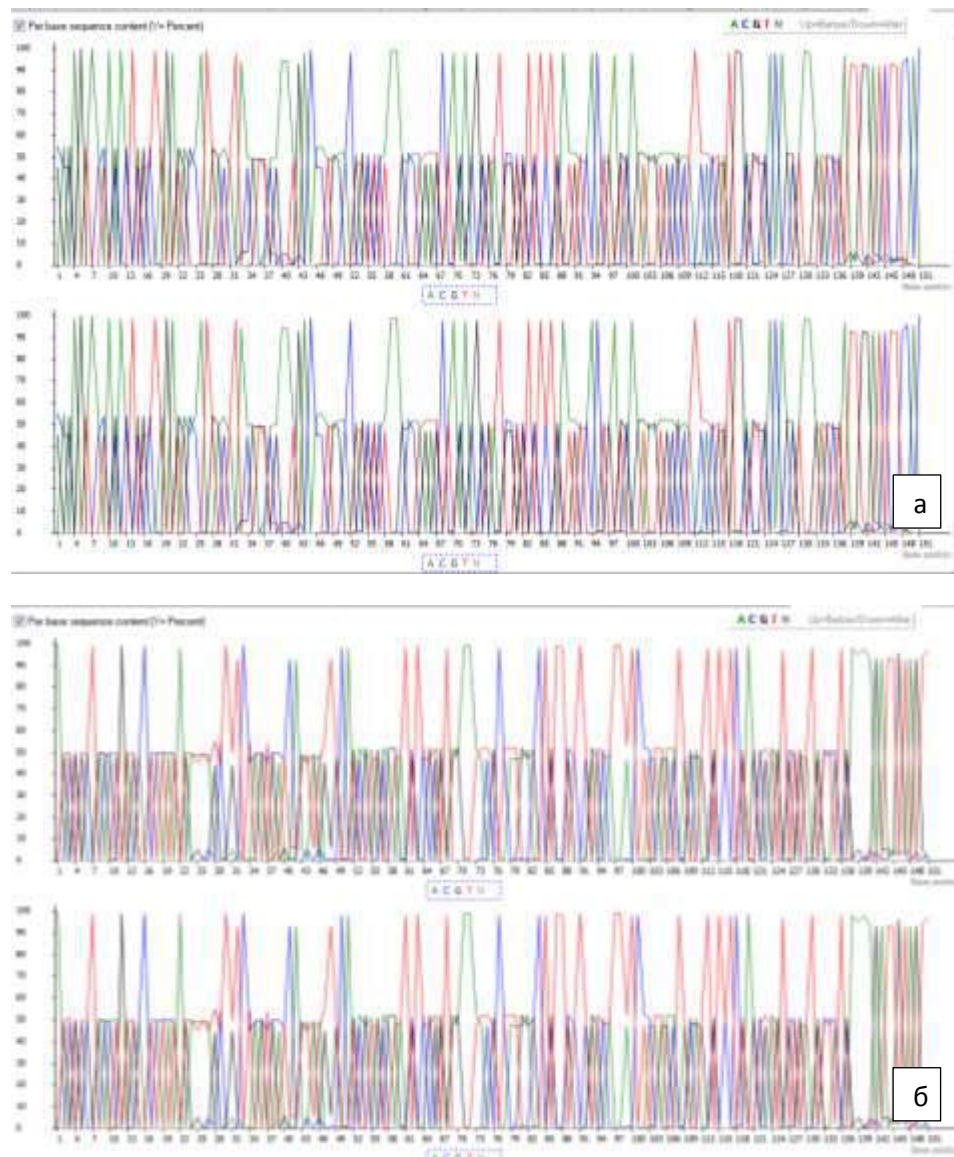


Рисунок 19 - Базовое содержание прямой (а) и обратной (б) последовательностей ДНК 10 экзона (1540-1664 п.н) и части 21 экзона (3030 -3185 п.н.) гена *PIK3CA* (выполнено с помощью программы NextGen Sequence Workbench).

В результате исследования методом секвенирования ДНК нового поколения не выявлено мутаций гена *PIK3CA* в образцах тканей эндометриом яичников у пациенток с инфильтративным эндометриозом, сочетающимся с эндометриоидными кистами яичников (n=30), а также в биоптатах корковой ткани яичника у пациенток основной группы (n=70) и группы сравнения (n=50).

3.2. Результаты исследования полиморфизмов генов, регулирующих апоптоз и ангиогенез, у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом

Результаты молекулярно-генетического типирования полиморфных вариантов генов, кодирующих белки-регуляторы апоптоза (*C-KIT*: 2600G>A, *KITLG*: 80441 C>T, *TP53*: Ex4+119 G>C (Arg72Pro) и ангиогенеза (*VEGF-A*: +12143 C>A, *VEGF-A*: -2578C>A, *VEGF-A*: -634 G>C, *VEGF-A*: +936C>T). свидетельствуют, что характер распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам исследуемых генов в обеих группах соответствует равновесию Харди—Вайнберга (таблица 39)

Таблица 39 - Анализ соответствия распределения исследуемых генотипов закону Харди-Вайнберга

Ген	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)	
	χ^2	<i>p</i>	χ^2	<i>p</i>
<i>C-KIT</i> : 2600	5,388	0,068	5,723	0,057
<i>KITLG</i> : 80441	1,747	0,417	2,317	0,314
<i>TP53</i> : Ex4+119	5,868	0,053	3,791	0,150
<i>VEGF-A</i> : +12143	2,021	0,364	5,889	0,053
<i>VEGF-A</i> : -2578	1,584	0,453	1,232	0,540
<i>VEGF-A</i> : -634	0,357	0,836	0,263	0,877
<i>VEGF-A</i> : +936	4,433	0,109	0,703	0,704

При анализе распределения генотипов по полиморфным маркерам исследуемых генов выявлено, что вариант гена регулятора апоптоза *TP53*: Ex4+119 CC регистрировался значимо чаще у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, чем у пациенток группы сравнения (ОШ=2,43 (95% ДИ 1,12; 5,27); $p<0,05$) (таблица 40).

Таблица 40 - Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам исследуемых генов-регуляторов апоптоза и ангиогенеза в группах наблюдения

Ген/генотип	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
<i>C-KIT</i> : 2600 GG	17	24	9	18	0.679	0.410	1,46	0,59	3,61
<i>C-KIT</i> : 2600 GA	45	64	36	72	0.791	0.374	0,70	0,32	1,54
<i>C-KIT</i> : 2600 AA	8	12	5	10	0.062	0.804	1,61	0,36	3,79
<i>KITLG</i> : 80441 CC	11	16	4	8	1.587	0.208	2,14	0,64	7,17
<i>KITLG</i> : 80441 CT	40	57	28	56	0.016	0.901	1,05	0,50	2,18
<i>KITLG</i> : 80441 TT	19	27	18	36	1.073	0.301	0,66	0,30	1,45
<i>TP53</i> : Ex4+119 GG	18	26	18	36	1.469	0.226	0,62	0,28	1,35
<i>TP53</i> : Ex4+119 GC	18	26	18	36	1.469	0.226	0,62	0,28	1,35
<i>TP53</i> : Ex4+119 CC	34	48	14	28	5.143	0.024	2,43	1,12	5,27
<i>VEGF-A</i> : +12143 CC	22	31	25	50	4.222	0.040	0,46	0,22	0,97
<i>VEGF-A</i> : +12143 CA	29	42	14	28	2.287	0.131	1,82	0,83	3,97
<i>VEGF-A</i> : +12143 AA	19	27	11	22	0.411	0.522	1,32	0,56	3,10
<i>VEGF-A</i> : -2578 CC	26	37	13	26	1.651	0.199	1,68	0,76	3,73
<i>VEGF-A</i> : -2578 CA	29	42	21	42	0.004	0.951	0,98	0,47	2,03
<i>VEGF-A</i> : -2578 AA	15	21	16	32	1.701	0.193	0,58	0,25	1,32
<i>VEGF-A</i> : -634 GG	24	34	19	38	0.175	0.676	1,50	0,68	3,34
<i>VEGF-A</i> : -634 GC	36	52	25	50	0.024	0.878	1,06	0,51	2,19
<i>VEGF-A</i> : -634 CC	10	14	6	12	0.132	0.717	1,22	0,41	3,62
<i>VEGF-A</i> : +936 CC	19	27	15	30	0.117	0.733	0,87	0,39	1,94
<i>VEGF-A</i> : +936 CT	26	37	22	44	0.571	0.450	0,75	0,36	1,58
<i>VEGF-A</i> : +936 TT	25	36	13	26	1.272	0.260	1,58	0,71	3,52

Распределение частот аллелей по полиморфным локусам исследуемых генов (таблица 41) показало статистически значимые различия в частоте полиморфного аллеля Ex4+119 G>C гена *TP53* (Arg72Pro). У женщин основной группы вариантный аллель Ex4+119 C гена *TP53* регистрировали статистически значимо чаще, чем у пациенток группы сравнения (ОШ=1,87 (95% ДИ 1,1; 3,15); p=0,018). Статистически значимых различий в частоте аллелей по полиморфным маркерам других исследуемых генов в исследуемых группах не выявлено.

Таблица 41 - Распределение частот аллелей по полиморфным маркерам исследуемых генов-регуляторов апоптоза и ангиогенеза в группах наблюдения

Ген/аллель	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
<i>C-KIT</i> : 2600 G	79	56	54	54	0.139	0.710	1,10	0,66	1,85
<i>C-KIT</i> : 2600 A	61	44	46	46			0,91	0,54	1,52
<i>KITLG</i> : 80441 C	62	44	36	36	1.658	0.198	1,41	0,83	2,39
<i>KITLG</i> : 80441 T	78	56	64	64			0,70	0,42	1,20
<i>TP53</i> : Ex4+119 G	54	39	54	54	5.610	0.018	0,54	0,32	0,90
<i>TP53</i> : Ex4+119 C	86	61	46	46			1,87	1,11	3,15
<i>VEGF-A</i> : +12143 C	73	52	64	64	3.348	0.068	0,61	0,36	1,04
<i>VEGF-A</i> : +12143 A	67	48	36	36			1,63	0,96	2,76
<i>VEGF-A</i> : -2578 C	81	58	47	47	2.763	0.097	1,55	0,92	2,60
<i>VEGF-A</i> : -2578 A	59	42	53	53			0,65	0,39	1,08
<i>VEGF-A</i> : -634 G	84	60	63	63	0.221	0.639	0,88	0,52	1,49
<i>VEGF-A</i> : -634 C	56	40	37	37			1,14	0,67	1,93
<i>VEGF-A</i> : +936 C	64	46	52	52	0.923	0.337	0,78	0,47	1,30
<i>VEGF-A</i> : +936 T	76	54	48	48			1,29	0,77	2,15

Для оценки возможного влияния генотипа на риск развития глубокого инфильтративного эндометриоза были использованы рецессивная и доминантная модели распределения частот генотипов по исследуемым полиморфным маркерам изучаемых генов у пациенток основной группы и группы сравнения.

При анализе рецессивной модели распределения частот генотипов (таблица 42) у женщин основной группы выявлена статистически значимо большая, чем у женщин группы сравнения, частота полиморфного маркера Ex4+119 G>C гена *TP53*. Генотип Ex4+119 CC гена *TP53* можно расценивать как генотип «риска» развития глубокого инфильтративного эндометриоза, так как его носительство увеличивает риск развития данного заболевания (ОШ=2,43 (95% ДИ 1,12; 5,27); $p<0,03$). Напротив, присутствие в генотипе вариантного аллеля Ex4+119 G в гомо- или гетерозиготном состоянии снижает шанс развития глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=0,41 (95% ДИ 0,19; 0,89); $p<0,03$).

Таблица 42 - Распределение частот генотипов по полиморфным вариантам исследуемых генов у женщин основной группы и группы сравнения (рецессивная модель)

Ген/полиморфизм	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
<i>C-KIT</i> : 2600 AA	18	12	5	10	0.062	0.804	1,16	0,36	3,79
<i>C-KIT</i> : 2600 GA+GG	62	88	45	90			0,86	0,26	2,80
<i>KITLG</i> : 80441 TT	19	27	18	36	1.073	0.301	0,66	0,30	1,45
<i>KITLG</i> : 80441 CT+CC	51	73	32	64			1,51	0,69	3,30
<i>TP53</i> : Ex4+119 CC	34	48	14	28	5.143	0.024	2,43	1,12	5,27
<i>TP53</i> : Ex4+119 GC+ GG	36	52	36	72			0,41	0,19	0,89
<i>VEGF-A</i> : +12143 AA	19	27	11	22	0.411	0.522	1,32	0,56	3,10
<i>VEGF-A</i> : +12143 CA+ CC	51	73	39	78			0,76	0,32	1,77
<i>VEGF-A</i> : -2578 AA	15	21	16	32	1.701	0.193	0,58	0,25	1,32
<i>VEGF-A</i> : -2578 CA+ CC	55	79	34	68			1,73	0,76	3,93
<i>VEGF-A</i> : -634 CC	10	14	6	12	0.012	0.913	1,22	0,41	3,62
<i>VEGF-A</i> : -634 GC+ GG	60	86	44	88			0,82	0,28	2,42
<i>VEGF-A</i> : +936 TT	25	36	13	26	1.272	0.260	1,58	0,71	3,52
<i>VEGF-A</i> : +936 CT+ CC	45	64	37	74			0,63	0,28	1,41

Результаты проведенного анализа доминантной модели распределения частот генотипов (таблица 43) выявили значимость полиморфного маркера *VEGF-A*: +12143 C>A в риске развития глубокого инфильтративного эндометриоза: присутствие в генотипе вариантного аллеля +12143 А в гомо- или гетерозиготном состоянии повышает риск развития данной патологии (ОШ=2,18 (95% ДИ 1,03; 4,61); p<0,05). Генотип CC гена-регулятора ангиогенеза *VEGF-A*: +12143, наоборот, дает протективный эффект в отношении развития глубокого инфильтративного эндометриоза (ОШ=0,46 (95% ДИ 0,22; 0,97); p<0,05).

Таблица 43 - Распределение частот генотипов по полиморфным вариантам исследуемых генов у женщин основной группы и группы сравнения (доминантная модель)

Ген/полиморфизм	Основная группа (n=70)		Группа сравнения (n=50)		χ^2	p	ОШ	95% ДИ	
	n	%	n	%					
<i>C-KIT</i> : 2600 GG	17	24	9	18	0.679	0.410	1,46	0,59	3,61
<i>C-KIT</i> : 2600 GA+ AA	53	76	41	82			0,68	0,28	1,69
<i>KITLG</i> : 80441 CC	11	16	4	8	1.587	0.208	2,14	0,64	7,17
<i>KITLG</i> : 80441 CT+TT	59	84	46	92			0,47	0,14	1,56
<i>TP53</i> : Ex4+119 GG	18	26	18	36	1.469	0.226	0,62	0,28	1,35
<i>TP53</i> : Ex4+119 GC+CC	52	74	32	64			1,63	0,74	3,57
<i>VEGF-A</i> : +12143 CC	22	31	25	50	4.222	0.040	0,46	0,22	0,97
<i>VEGF-A</i> : +12143 CA+AA	48	69	25	50			2,18	1,03	4,62
<i>VEGF-A</i> : -2578 CC	26	37	13	26	1.651	0.199	1,68	0,76	3,73
<i>VEGF-A</i> : -2578 CA+AA	44	63	37	74			0,56	0,27	1,32
<i>VEGF-A</i> : -634 GG	24	34	19	38	0.175	0.676	0,85	0,40	1,81
<i>VEGF-A</i> : -634 GC+CC	46	66	31	62			1,18	0,55	2,50
<i>VEGF-A</i> : +936 CC	19	27	15	30	0.117	0.733	0,87	0,39	1,94
<i>VEGF-A</i> : +936 CT+TT	51	73	35	70			1,15	0,52	2,57

3.3. Результаты исследования межгенных взаимодействий генов, регулирующих апоптоз и ангиогенез, у женщин с глубоким инфильтративным эндометриозом

С использованием биоинформатического метода сокращения многофакторной размерности была сформирована трехлокусная модель прогнозирования риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза: *C-KIT* (2600G/A) x *VEGFA* (-2578C/A) x *TP53* (Ex4+119 G/C), характеризовавшаяся чувствительностью 93% и специфичностью 91% (таблица 44).

Таблица 44 - Результаты анализа межгенных взаимодействий при глубоком инфильтративном эндометриозе, рассчитанные с помощью программы MDR v2.0 beta 8

Число локусов в модели	Наиболее значимые комбинации локусов в модели	χ^2	p	OR	ДИ	
					1,12	5,27
1	<i>TP53</i> (Ех4+119 G/C)	5,14	0,02	2,42	1,12	5,27
2	<i>KITLG</i> (80441 C/T) x <i>TP53</i> (Ех4+119 G/C)	13,22	0,0003	4,46	1,94	10,26
3	<i>C-KIT</i> (2600G/A) x <i>VEGFA</i> (-2578C/A) x <i>TP53</i> (Ех4+119 G/C)	22,61	0,0001	6,64	2,94	14,97

Точность предсказания модели: 0,72
Чувствительность: 0,93
Специфичность: 0,91

В результате исследования выявлено 13 генотипов повышенного риска и 12 генотипов пониженного риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза (рисунок 20).

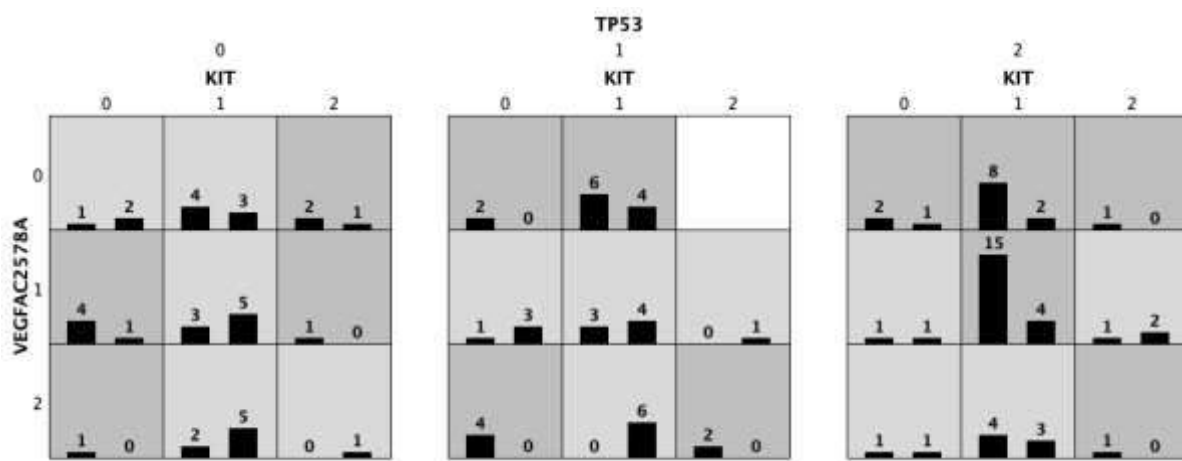


Рисунок 20 - Межгенные взаимодействия в риске формирования глубокого инфильтративного эндометриоза. Квадраты темно-серого цвета — генотипы повышенного риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза. Квадраты светло-серого цвета — генотипы пониженного риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза. Квадраты белые — отсутствие

ассоциаций генотипов. Левые столбики — пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом; правые столбики — пациентки группы сравнения

Согласно данной прогностической модели в патогенезе глубокого инфильтративного эндометриоза играет роль сочетание однонуклеотидных полиморфизмов генов, регулирующих апоптоз (*C-KIT*: 2600G>A, *TP53*: Ex4+119 G>C) и ангиогенез (*VEGF-A*: -2578C>A). Чувствительность метода составляет 93%, специфичность – 91%. Для прогнозирования наличия глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток с клиническими проявлениями заболевания в виде синдрома хронической тазовой боли, диспареунии или бесплодия проводят молекулярно-генетическое исследование с определением однонуклеотидных полиморфизмов генов *C-KIT*, *TP53*, регулирующих апоптоз, и гена *VEGF-A*, регулирующего ангиогенез. Наличие сочетания однонуклеотидных полиморфизмов генов *C-KIT*: 2600G>A, *TP53*: Ex4+119 G>C, *VEGF-A*: -2578C>A свидетельствует о высоком риске развития у пациентки глубокого инфильтративного эндометриоза, ассоциированного со снижением овариального резерва.

Резюме

В результате исследования методом секвенирования ДНК нового поколения не выявлено мутаций гена *PIK3CA* в образцах тканей эндометриом яичников у пациенток с инфильтративным эндометриозом, сочетающимся с эндометриоидными кистами яичников, а также в биоптатах корковой ткани яичника у пациенток основной группы и группы сравнения.

В результате молекулярно-генетического типирования полиморфных вариантов генов, кодирующих белки-регуляторы апоптоза и ангиогенеза выявлено, что вариант гена-регулятора апоптоза *TP53*: Ex4+119 CC регистрировался значимо чаще у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, чем у пациенток группы сравнения.

При анализе рецессивной модели распределения частот генотипов у женщин основной группы выявлена статистически значимо большая, чем у

женщин группы сравнения, частота полиморфного маркера Ex4+119 G>C гена *TP53*. Генотип Ex4+119 CC гена *TP53* можно расценивать как генотип «риска» развития глубокого инфильтративного эндометриоза, так как его носительство увеличивает риск развития данного заболевания. Напротив, присутствие в генотипе вариантного аллеля Ex4+119 G в гомо- или гетерозиготном состоянии снижает шанс развития глубокого инфильтративного эндометриоза.

Результаты проведенного анализа доминантной модели распределения частот генотипов выявили значимость полиморфного маркера *VEGF-A: +12143 C>A* в риске развития глубокого инфильтративного эндометриоза: присутствие в генотипе вариантного аллеля +12143 A в гомо- или гетерозиготном состоянии повышает риск развития данной патологии. Генотип *VEGF-A: +12143 CC*, наоборот, дает протективный эффект в отношении развития глубокого инфильтративного эндометриоза.

С использованием биоинформатического метода сокращения многофакторной размерности была сформирована трехлокусная модель прогнозирования риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза, согласно которой в патогенезе глубокого инфильтративного эндометриоза играет роль сочетание однонуклеотидных полиморфизмов генов, регулирующих апоптоз (*C-KIT: 2600G>A*, *TP53: Ex4+119 G>C*) и ангиогенез (*VEGF-A: -2578C>A*).

Генетически запрограммированная дисрегуляция процессов апоптоза и ангиогенеза может являться одним из важных механизмов снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе.

Материалы главы 3 опубликованы в следующих работах:

- 1. Окулова, Е.О.** Молекулярно-генетические механизмы регуляции апоптоза в снижении овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом / **Е.О. Окулова, О.А. Мелкозерова, А.А. Михельсон, Т.Б. Третьякова** // Естественные основы медико-биологических знаний : материалы III Всероссийской конференции студентов и молодых ученых с

международным участием- Москва, 2021. – С.81-84.

2. **Окулова, Е.О.** Молекулярно-генетические предикторы снижения овариального резерва при глубоком инфилтративном эндометриозе. Роль регуляции апоптоза (тезисы) / **Е.О. Окулова**, О.А. Мелкозерова, Т.Б. Третьякова, Г.Н. Чистякова, А.А. Михельсон // Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний : сборник трудов XXXIV международного конгресса с курсом эндоскопии. – Москва, 2021.– С.29-30.
3. Мелкозерова, О.А. Роль мутаций генов PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути в снижении овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфилтративным эндометриозом / О.А. Мелкозерова, **Е.О. Окулова**, А.А. Михельсон, Т.Б. Третьякова // Гены и клетки. – 2021. - № 2.- С. 66-70.
4. Мелкозерова, О.А. Молекулярно-генетические предикторы и состояние овариального резерва при глубоком инфилтративном эндометриозе / О.А. Мелкозерова, **Е.О. Окулова**, А.А. Михельсон, Т.Б. Третьякова // Акушерство и гинекология.- 2021. - № 11. – С. 175-186.
5. **Окулова, Е.О.** Активирующие мутации генов PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути и состояние овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфилтративным эндометриозом / **Е.О. Окулова**, О.А. Мелкозерова, А.А. Михельсон, Г.Б. Мальгина, Т.Б. Третьякова, Т.А. Путилова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2021. - № 6. – С. 92–100.
6. Мелкозерова, О.А. Роль мутаций генов PI3K/AKT/mTOR сигнального пути в снижении овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфилтративным эндометриозом / О.А. Мелкозерова, **Е.О. Окулова**, А.А. Михельсон, Т.Б. Третьякова // Гинекология. - 2021. - № 6. - С. 548-553.

ГЛАВА 4

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СНИЖЕНИЯ ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ГЛУБОКОГО ИНФИЛЬТРАТИВНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

4.1. Иммуногистохимические особенности экспрессии эстрогеновых рецепторов, регуляторов апоптоза и ангиогенеза в корковой ткани яичника при глубоком инфильтративном эндометриозе

Результаты иммуногистохимического исследования корковой ткани яичника у пациенток групп наблюдения представлены в таблице 45. По результатам проведенного иммуногистохимического исследования было выявлено, что экспрессия эстрогеновых рецепторов в гранулезной ткани яичников у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом была значимо ниже ($1,41 \pm 0,57$ баллов H-score), чем у пациенток группы сравнения ($14,83 \pm 6,22$ баллов H-score), $p < 0,001$ (рисунок 21).

Таблица 45 - Уровень экспрессии иммуногистохимических маркеров в гранулезной ткани яичников у пациенток исследуемых групп, $M \pm m$

Иммуногистохимический маркер	Основная группа (n=70)	Группа сравнения (n=50)	Уровень значимости различий, p
ER, H-score	$1,41 \pm 0,57$	$14,83 \pm 6,22$	$<0,001$
VEGF-R1, %	$1,68 \pm 0,55$	$1,41 \pm 1,75$	0,389
P53, %	$2,77 \pm 2,16$	$1,88 \pm 1,12$	0,004
Bcl-2, H-score	$100,21 \pm 54,37$	$128,1 \pm 63,46$	0,013
PTEN, %	$55,61 \pm 25,05$	$70,31 \pm 24,74$	0,002
АКТ, %	$61,04 \pm 15,96$	$50,6 \pm 22,96$	0,007

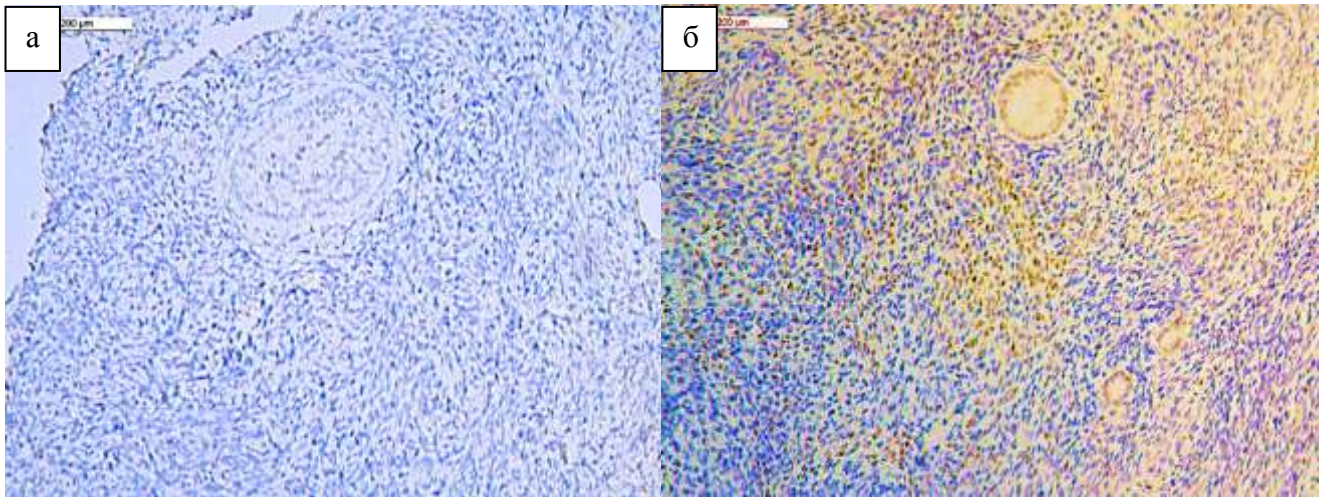


Рисунок 21 - Экспрессия ER (коричневое окрашивание) в гранулезной ткани яичников. Слабая экспрессия ER у пациенток основной группы (а) и выраженная экспрессия ER у пациенток группы сравнения (б). ИГХ, увеличение×200.

Экспрессия рецептора-1 сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-R1) в гранулезной ткани яичников значимо не различалась между пациентками с глубоким инфильтративным эндометриозом ($1,68 \pm 0,55\%$) и пациентками группы сравнения ($1,41 \pm 1,75\%$), $p > 0,05$.

У пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом отмечалась более выраженная экспрессия белка-активатора апоптоза p53 в гранулезе яичника ($2,77 \pm 2,16\%$), чем у пациенток группы сравнения ($1,88 \pm 1,12\%$), $p < 0,05$ (рисунок 22).

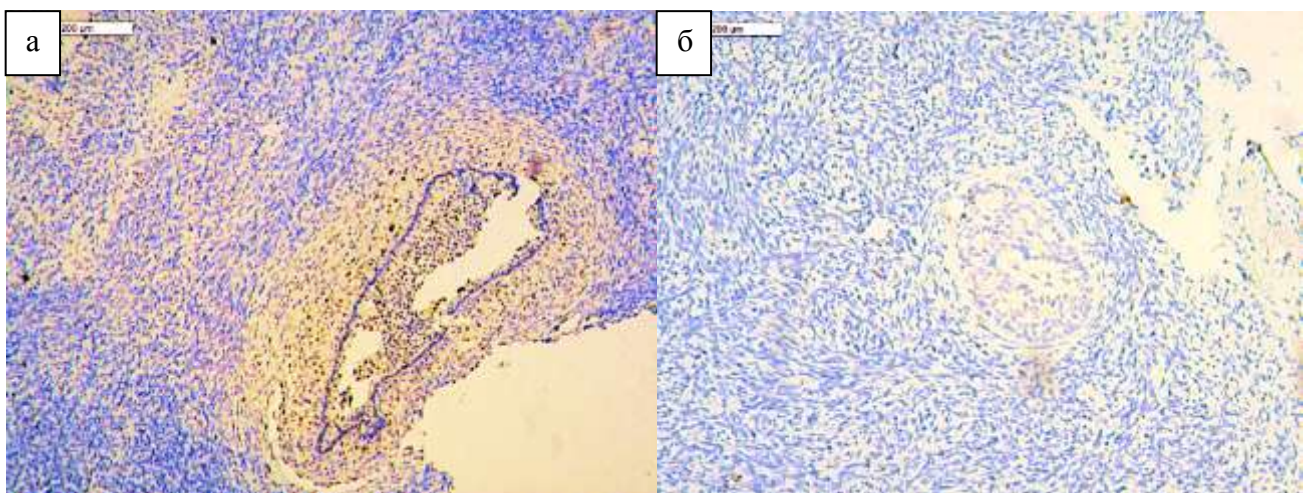


Рисунок 22 - Экспрессия p53 (коричневое окрашивание) в гранулезной ткани яичников. Выраженная экспрессия p53 у пациенток основной группы (а) и слабая экспрессия p53 у пациенток группы сравнения (б). ИГХ, увеличение×200.

Экспрессия блокатора апоптоза Bcl-2 была значимо ниже в гранулезной ткани яичника у пациенток основной группы ($100,21 \pm 54,37$ баллов H-score), чем у пациенток группы сравнения ($128,1 \pm 63,46$ баллов H-score), $p < 0,05$ (рисунок 23).

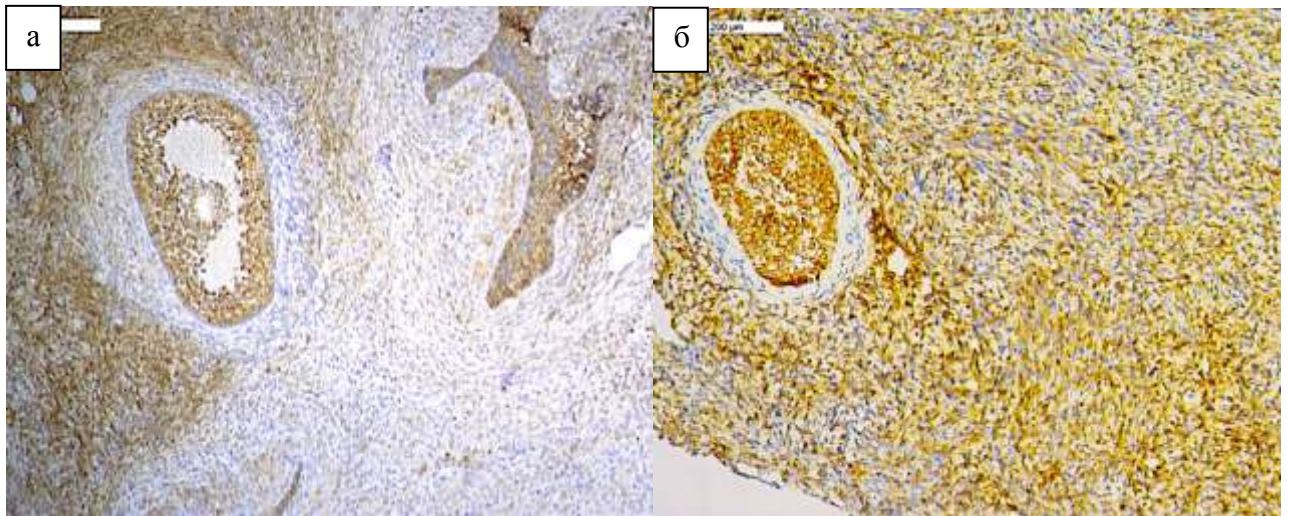


Рисунок 23 - Экспрессия Bcl-2 (коричневое окрашивание) в гранулезной ткани яичников. Слабая экспрессия Bcl-2 у пациенток основной группы (а) и выраженная экспрессия Bcl-2 у пациенток группы сравнения (б). ИГХ, увеличение $\times 200$.

Экспрессия PTEN (фосфатаза и гомолог тензина), являющегося блокатором антиапоптотического сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, была статистически значимо ниже в гранулезной ткани яичника у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом ($55,61 \pm 25,05\%$) по сравнению с пациентками второй группы ($70,31 \pm 24,74\%$), $p < 0,05$ (рисунок 24).

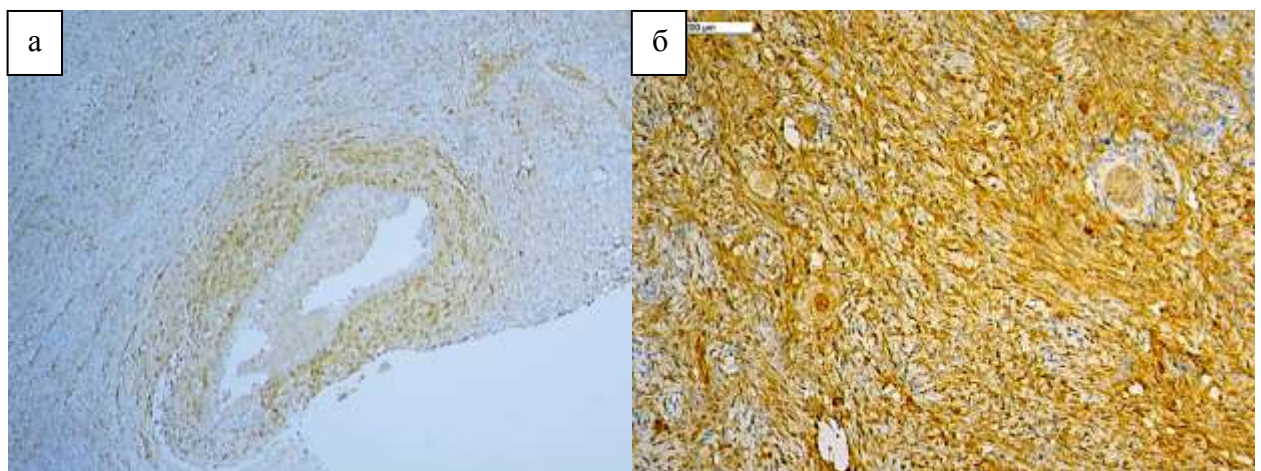


Рисунок 24 - Экспрессия PTEN (коричневое окрашивание) в гранулезной ткани яичников. Слабая экспрессия PTEN у пациенток основной группы (а) и

выраженная экспрессия PTEN у пациенток группы сравнения (б). ИГХ, увеличение×200.

Экспрессия протеинкиназы В (АКТ), являющейся центральным компонентом антиапоптотического сигнального пути PI3K/АКТ/mTOR, была значимо выше в гранулезной ткани яичника у пациенток основной группы ($61,04 \pm 15,96\%$), чем у пациенток группы сравнения ($50,6 \pm 22,96\%$), $p < 0,05$.

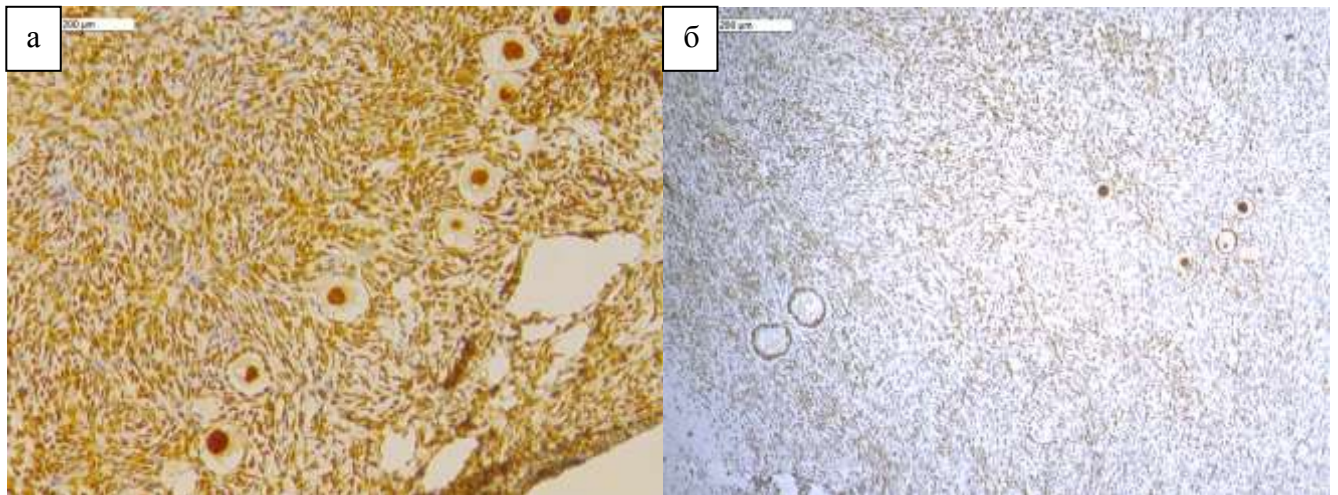


Рисунок 25 - Экспрессия АКТ (коричневое окрашивание) в гранулезной ткани яичников. Выраженная экспрессия АКТ у пациенток основной группы (а) и слабая экспрессия АКТ у пациенток группы сравнения (б). ИГХ, увеличение×200.

4.2 Иммуногистохимические особенности корковой ткани яичника и очагов эндометриоза у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва

По результатам иммуногистохимического исследования выявлено, что у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза отмечалось более выраженное уменьшение экспрессии ER в гранулезной ткани яичника ($1,17 \pm 0,36$ баллов H-score), чем у пациенток без послеоперационного снижения овариального резерва ($1,64 \pm 0,86$ баллов H-score), $p < 0,05$ (таблица 46).

Таблица 46 - Уровень экспрессии иммуногистохимических маркеров в гранулезной ткани яичников у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом в зависимости от наличия послеоперационного снижения овариального резерва, $M \pm m$

Показатель	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
ER, H-score	1,17 ± 0,36	1,64 ± 0,86	0,003
VEGF-R1, %	1,86 ± 0,75	1,48 ± 0,35	0,015
P53, %	3,40 ± 3,16	2,12 ± 0,92	0,036
Bcl-2, H-score	86,58 ± 44,68	114,29 ± 69,22	0,047
PTEN, %	48,20 ± 22,11	62,19 ± 28,79	0,025
АКТ, %	60,29 ± 15,81	61,32 ± 16,29	0,937

Несмотря на то, что в строме и железах эндометриоидных очагов экспрессия ER1 была высокой, у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва она была значимо ниже (в строме очага - $54,55 \pm 23,61$ баллов, в железах - $60,09 \pm 38,03$ баллов H-score), чем у пациенток без выраженного снижения овариального резерва после операции (в строме очага - $67,90 \pm 31,12$ баллов, в железах - $91,15 \pm 56,71$ баллов H-score), $p < 0,05$ (таблицы 47, 48, рисунок 26).

Таблица 47 - Уровень экспрессии иммуногистохимических маркеров в стромальной ткани эндометриоидных очагов у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом в зависимости от наличия послеоперационного снижения овариального резерва, $M \pm m$

Показатель	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
ER, H-score	54,55±23,61	67,90±31,12	0,005
VEGF-R1, %	1,92±1,41	3,32±2,05	0,001
P53, %	1,53±0,54	2,18±1,33	0,007
Bcl-2, H-score	79,00±44,84	59,36±26,70	0,037
PTEN, %	56,00±28,23	73,90±33,93	0,009
АКТ, %	61,90±28,35	66,80±42,04	0,560

Таблица 48 - Уровень экспрессии иммуногистохимических маркеров в железистой ткани эндометриоидных очагов у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом в зависимости от наличия послеоперационного снижения овариального резерва, $M \pm m$

Показатель	Пациентки со значимым снижением овариального резерва после операции (n=30)	Пациентки без значимого снижения овариального резерва после операции (n=30)	Уровень значимости различий, p
ER, H-score	60,09±38,03	91,15±56,71	0,007
VEGF-R1, %	6,82±4,46	9,74±5,26	0,014
P53, %	4,00±1,55	6,91±5,39	0,002
Bcl-2, H-score	122,95±55,39	84,73±39,74	0,002
PTEN, %	40,70±24,06	63,21±30,64	<0,001
АКТ, %	57,2±28,81	63,63±39,84	0,428

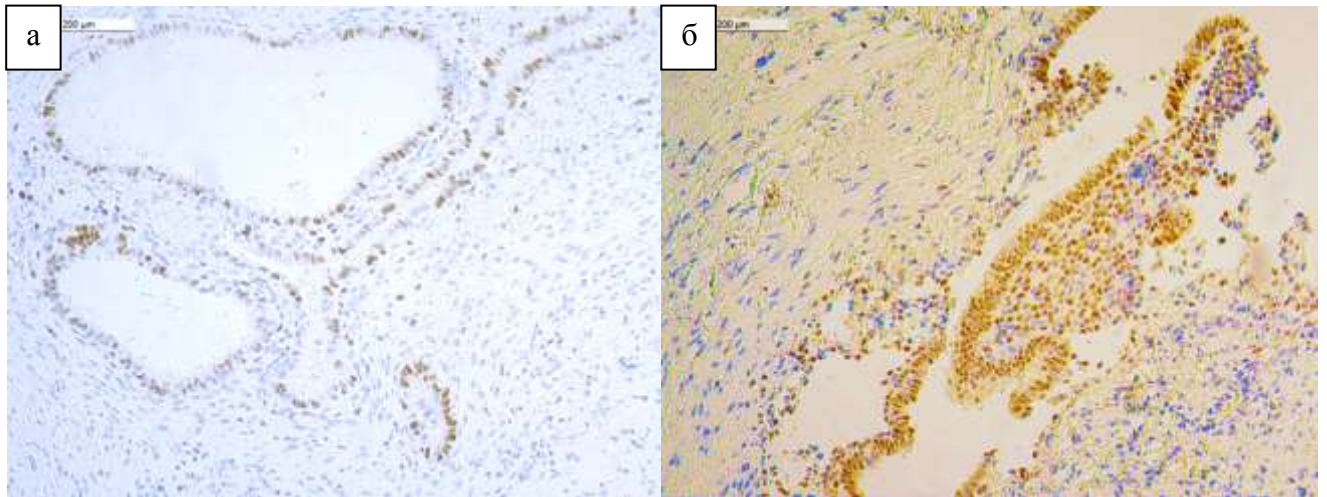


Рисунок 26 - Экспрессия ER (коричневое окрашивание) в очагах эндометриоза. Слабая экспрессия ER в строме и железах очагов у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва (а) и выраженная экспрессия ER в строме и железах очагов у пациенток без значимого послеоперационного снижения овариального резерва (б). ИГХ, увеличение×00.

У пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва экспрессия VEGF-R1 в гранулезной ткани яичника была значимо выше ($1,86 \pm 0,75\%$), чем у пациенток без выраженного послеоперационного снижения овариального резерва ($1,48 \pm 0,35\%$), $p < 0,05$ (рисунок 27).

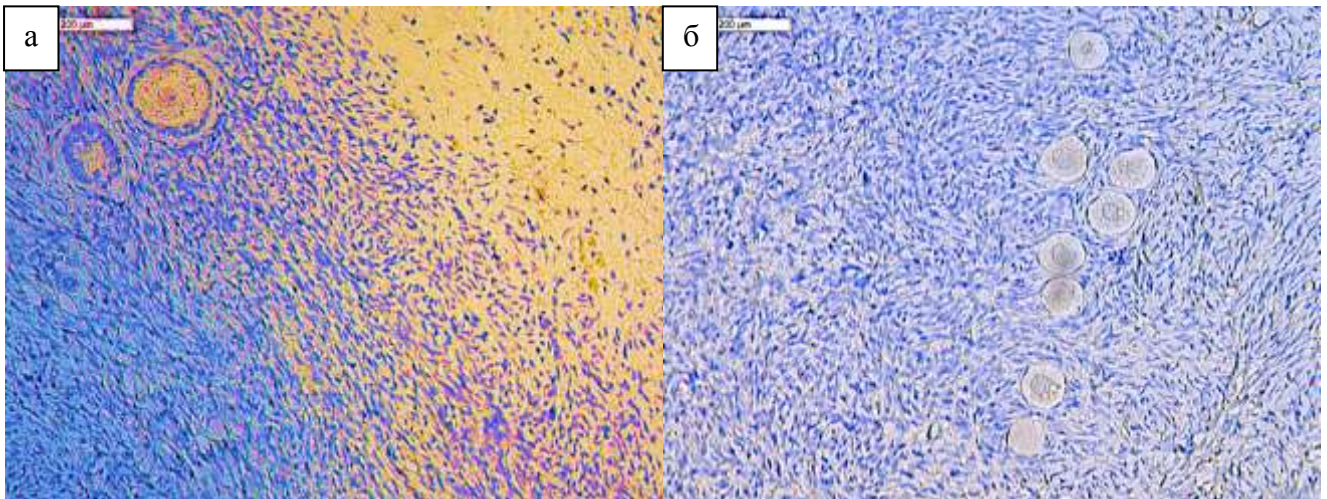


Рисунок 27 - Экспрессия VEGF-R1 (коричневое окрашивание) в гранулезной ткани яичников. Выраженная экспрессия VEGF-R1 у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва (а) и слабая экспрессия VEGF-R1 у пациенток без значимого послеоперационного снижения овариального резерва (б). ИГХ, увеличение×200.

В строме и железах очагов эндометриоза экспрессия VEGF-R1, напротив, была значимо ниже у пациенток первой группы ($1,92 \pm 1,41\%$ и $6,82 \pm 4,46\%$, соответственно), чем у пациенток второй группы ($3,32 \pm 2,05\%$ и $9,74 \pm 5,26\%$, соответственно), $p < 0,05$ (рисунок 28).

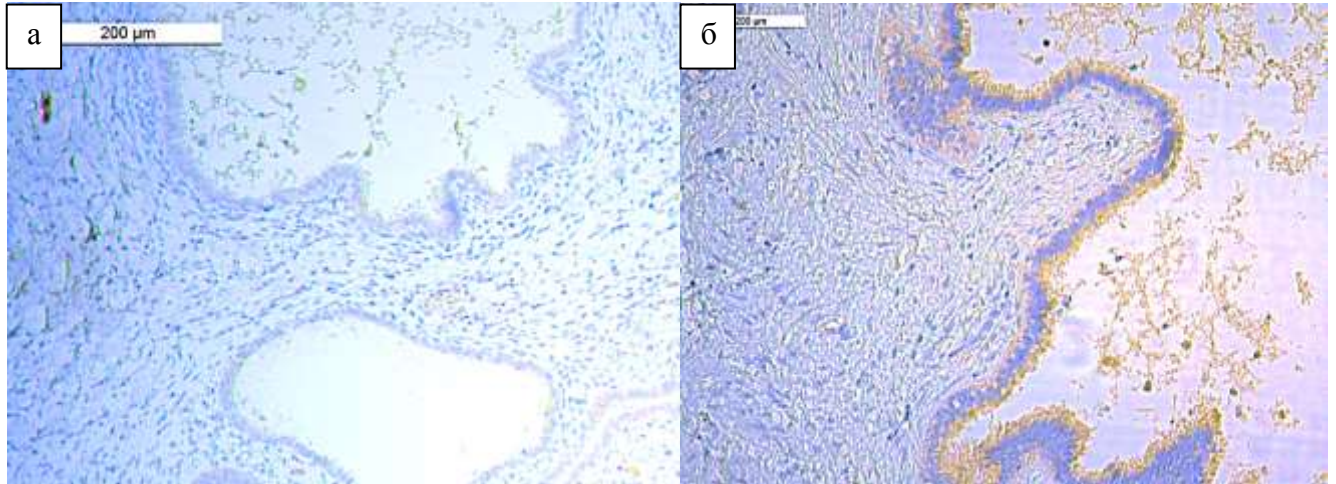


Рисунок 28 - Экспрессия VEGF-R1 (коричневое окрашивание) в очагах эндометриоза. Слабая экспрессия VEGF-R1 в строме и железах очагов у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва (а) и выраженная экспрессия VEGF-R1 в строме и железах очагов у пациенток без значимого послеоперационного снижения овариального резерва (б). ИГХ, увеличение $\times 200$.

Пациентки со значимым послеоперационным снижением овариального резерва имели более выраженную экспрессию p53 в гранулезе яичника ($3,40 \pm 3,16\%$), чем пациентки без значимого послеоперационного снижения овариального резерва ($2,12 \pm 0,92\%$), $p < 0,05$. В то же время, в очагах эндометриоза отмечалось снижение экспрессии p53 у пациенток со значимым снижением овариального резерва как в строме ($1,53 \pm 0,54\%$), так и в железах ($4,00 \pm 1,55\%$), по сравнению с пациентками второй группы, где данные показатели составили $2,18 \pm 1,33\%$ и $6,91 \pm 5,39\%$, соответственно, $p < 0,05$ (рисунок 29).

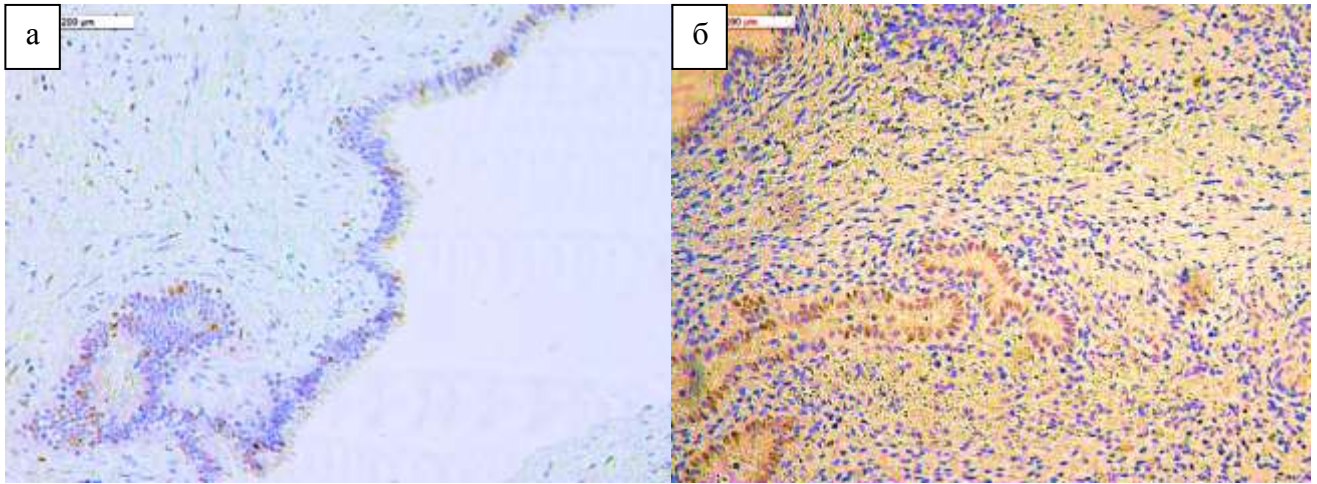


Рисунок 29 - Экспрессия p53 (коричневое окрашивание) в очагах эндометриоза. Слабая экспрессия p53 в строме и железах очагов у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва (а) и выраженная экспрессия p53 в строме и железах очагов у пациенток без значимого послеоперационного снижения овариального резерва (б). ИГХ, увеличение $\times 200$.

Уровень экспрессии Vcl-2 в корковой ткани яичника у пациенток со значимым снижением овариального резерва после операции составил $86,58 \pm 44,68$ баллов H-score, что было значимо меньше, чем у пациенток без послеоперационного снижения овариального резерва, у которых данный показатель равнялся $114,29 \pm 69,22$ баллов H-score, $p < 0,05$. В очагах эндометриоза, напротив, экспрессия Vcl-2 преобладала у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва как в строме очага ($79,00 \pm 44,84$ баллов H-score), так и в железах ($122,95 \pm 55,39$ баллов H-score), по сравнению с пациентками второй группы, у которых экспрессия Vcl-2 составила $59,36 \pm 26,70$ баллов H-score в строме и $84,73 \pm 39,74$ баллов H-score в железах очагов, соответственно, $p < 0,05$ (рисунок 30).

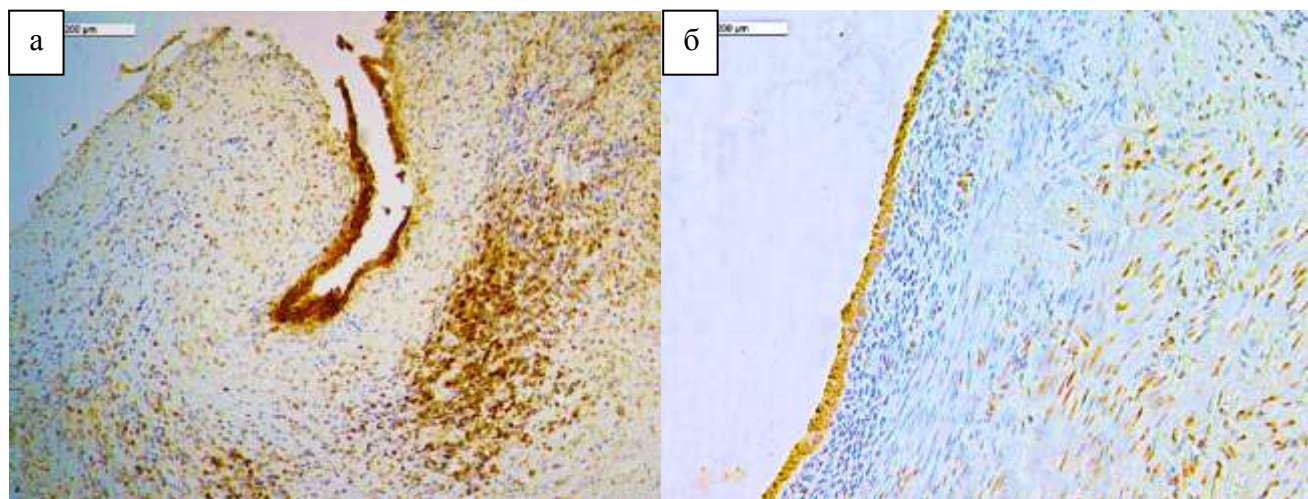


Рисунок 30 - Экспрессия Vcl-2 (коричневое окрашивание) в очагах эндометриоза. Выраженная экспрессия Vcl-2 в строме и железах очагов у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва (а) и слабая экспрессия Vcl-2 в строме и железах очагов у пациенток без значимого послеоперационного снижения овариального резерва (б). ИГХ, увеличение $\times 200$.

Экспрессия PTEN в гранулезной ткани яичника была значимо ниже у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва ($48,20 \pm 22,11\%$) по сравнению с пациентками без выраженного послеоперационного снижения овариального резерва ($62,19 \pm 28,79\%$), $p < 0,05$. В строме и железах эндометриоидных очагов экспрессия PTEN, как и в ткани яичника, была значимо ниже у пациенток первой группы, составив $56,00 \pm 28,23\%$ и $40,70 \pm 24,06\%$, соответственно, по сравнению с пациентками второй группы, где данный показатель составил $73,90 \pm 33,93\%$ и $63,21 \pm 30,64\%$, соответственно, $p < 0,05$ (рисунок 31).

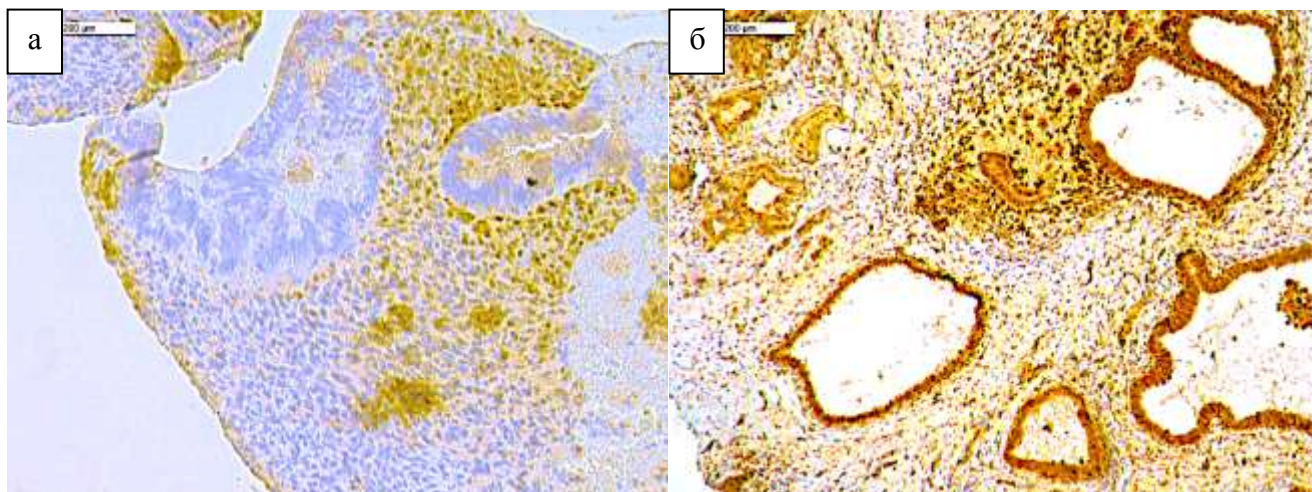


Рисунок 31 - Экспрессия PTEN (коричневое окрашивание) в очагах эндометриоза. Слабая экспрессия PTEN в строме и железах очагов у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва (а) и выраженная экспрессия PTEN в строме и железах очагов у пациенток без значимого послеоперационного снижения овариального резерва (б). ИГХ, увеличение×200.

Не было статистически значимых различий по уровню экспрессии АКТ в гранулезной ткани яичников и очагах эндометриоза у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом в зависимости от наличия послеоперационного снижения овариального резерва.

Степень отклонения уровней экспрессии иммуногистохимических маркеров в гранулезной ткани яичников у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом от пациенток группы сравнения в зависимости от наличия послеоперационного снижения уровня овариального резерва представлена на рисунке 32. Пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом имели выраженные отклонения от группы сравнения (свыше 50%) по уровню экспрессии эстрогеновых рецепторов в гранулезе яичников независимо от степени послеоперационного снижения овариального резерва. Обращает на себя внимание высокая степень отклонения от группы сравнения по уровню экспрессии регуляторов апоптоза и ангиогенеза в гранулезной ткани яичников у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва (от 16% и выше). В свою очередь, пациентки с глубоким инфильтративным

эндометриозом без значимого послеоперационного снижения овариального резерва по уровню экспрессии регуляторов апоптоза и ангиогенеза в корковой ткани яичников были более приближены к пациенткам группы сравнения, степень отклонения от которых не превысила 25%.

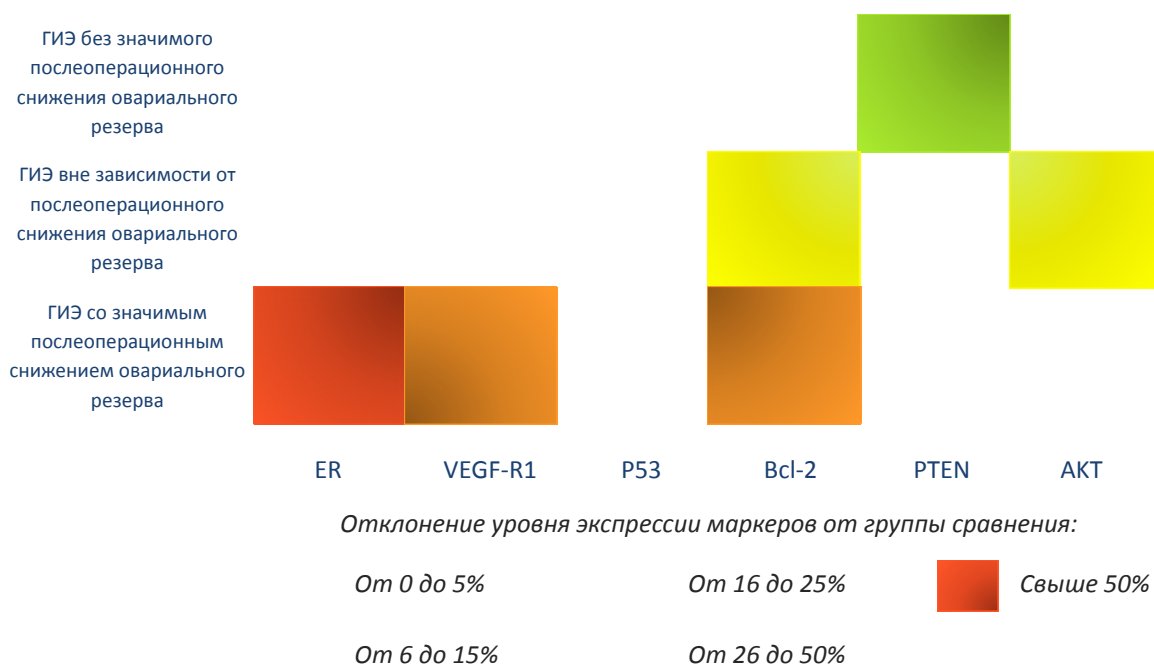


Рисунок 32 – Степень отклонения уровней экспрессии иммуногистохимических маркеров в гранулезной ткани яичников у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом (ГИЭ) от пациенток группы сравнения в зависимости от наличия послеоперационного снижения уровня овариального резерва, $M \pm m$

Резюме

По результатам проведенного иммуногистохимического исследования было выявлено, что в гранулезной ткани яичников пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом в сравнении со второй группой отмечалось усиление экспрессии белка-активатора апоптоза p53, а также протеинкиназы В (АКТ), являющейся центральным компонентом антиапоптотического сигнального пути PI3K/АКТ/mTOR.

Экспрессия эстрогеновых рецептов, блокатора апоптоза Bcl-2 и PTEN (фосфатаза и гомолог тензина), являющегося блокатором антиапоптотического

сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, напротив, была значимо ниже у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, чем в группе сравнения.

У пациенток со значимым снижением овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза отмечалась более выраженная экспрессия рецептора-1 сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-R1) и белка p53 в гранулезной ткани яичников, чем у пациенток без значимого послеоперационного снижения овариального резерва. Экспрессия ER, Bcl-2 и PTEN была значимо ниже в гранулезной ткани яичников у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва, чем у пациенток без выраженного послеоперационного снижения овариального резерва.

В железистой и стромальной ткани эндометриоидных очагов отмечено усиление экспрессии VEGF-R1 и Bcl-2, а также снижение экспрессии ER, p53 и PTEN у пациенток со значимым снижением овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза по сравнению с пациентками без выраженного послеоперационного снижения овариального резерва.

У пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва обращает на себя внимание значимо более высокая степень изменения экспрессии регуляторов апоптоза и ангиогенеза в гранулезной ткани яичников относительно группы сравнения. Тогда как пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом без значимого послеоперационного снижения овариального резерва по уровню экспрессии регуляторов апоптоза и ангиогенеза в корковой ткани яичников были более приближены к пациенткам группы сравнения. Высокая степень дисрегуляции процессов апоптоза и ангиогенеза может лежать в основе послеоперационного снижения овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом.

Материалы главы 4 опубликованы в следующих работах:

1. Мелкозерова, О.А. Молекулярно-биологические механизмы снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза / О.А. Мелкозерова, Е.О. Окулова, А.А. Михельсон, Г.Н.

Чистякова, А.А. Гришкина, О.В. Лимановская, А.С. Глухов, А.С. Духович // Проблемы репродукции (статья принята редакцией журнала к публикации, ожидается публикация в №3).

ГЛАВА 5

**ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСониФИЦИРОВАННОГО ПОДХОДА В
СТРАТЕГИИ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА
С ГЛУБОКИМ ИНФИЛЬТРАТИВНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ****5.1. Прогнозирование риска глубокого инфильтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста**

С целью повышения эффективности и темпов диагностики глубокого инфильтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста разработана математическая модель прогнозирования риска развития данного заболевания. Методом пошагового дискриминантного анализа с помощью пакета прикладных программ «IBM SPSS Statistics 26.0» проанализированы клинико-анамнестические данные, результаты иммуноферментного анализа и молекулярно-генетического типирования полиморфных вариантов генов-регуляторов апоптоза и ангиогенеза у обследуемых женщин основной группы (n=70) и группы сравнения (n=50).

На основании дискриминантного анализа были отобраны наиболее информативные предикторы формирования глубокого инфильтративного эндометриоза, к которым относятся продолжительность менструального цикла, наличие хронической тазовой боли, первичного бесплодия, присутствие в генотипе вариантного аллеля 2578 А гена *VEGF-A*, а также концентрация антимюллерова гормона в сыворотке крови. В результате построено прогностическое правило на основании вычисления интегрального показателя D , имеющего следующий вид:

$$D = 7,244 \times x_1 + 3,102 \times x_2 - 1,781 \times x_3 - 0,249 \times x_4 - 0,242 \times x_5 + 4,882$$

Где x_1 – наличие хронической тазовой боли, 0 - нет, 1 - да;

x_2 – наличие первичного бесплодия, 0 - нет, 1 - да;

x_3 – присутствие в генотипе вариантного аллеля 2578 А гена *VEGF-A*, 0 – нет, 1 - да;

x_4 – продолжительность менструального цикла, дней;

x_5 – концентрация антимюллера гормона в крови, нг/мл,

при $D > 0$ прогнозируют высокий риск формирования глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста,

при $D < 0$ прогнозируют низкий риск формирования глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста.

Чувствительность и специфичность полученных результатов была оценена при помощи ROC-анализа (Receiver Operator Characteristic — операционная характеристика приемника, с англ.). По итогам скользящего экзамена в регламенте SPSS чувствительность параметров прогнозирования риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста составила 94,8%, специфичность 94,5%. Получен приоритет № 2022104346 от 20.02.2022 г.

По результатам построения ROC-кривой показатель AUC (Area under ROC curve - площадь под ROC-кривой, с англ.) составил $0,949 \pm 0,020$, ДИ 0,911-0,988 при $p < 0,001$, что соответствует высокому качеству модели прогнозирования риска формирования глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста (рисунок 33).

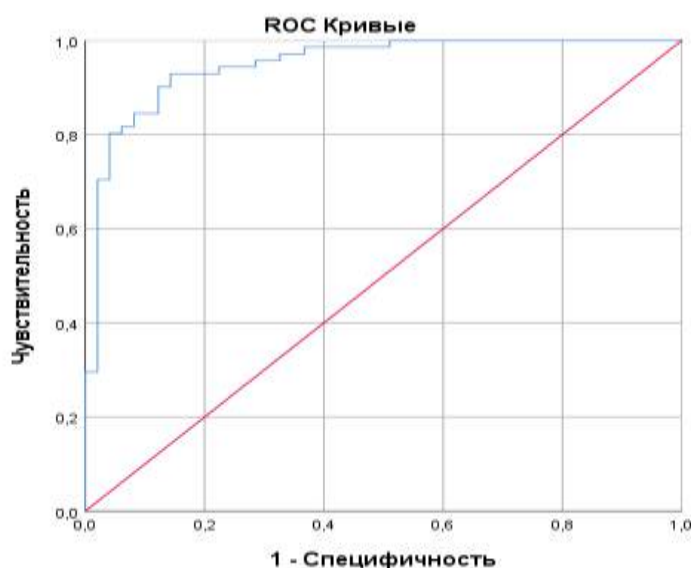


Рисунок 33 - ROC-кривая модели прогнозирования риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста

Таким образом, разработанный способ позволяет прогнозировать риск формирования глубокого инфильтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста для оптимизации тактики ведения и своевременного решения вопроса о необходимости хирургического лечения.

5.2. Разработка компьютерного программного продукта прогнозирования риска снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза

Стратегия лечения глубокого инфильтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста должна быть основана на персонифицированной оценке рисков хирургического вмешательства в отношении его влияния на овариальный резерв и учитывать репродуктивные планы женщины. Очевидно, что планирование оперативного лечения и сроков его проведения должно быть максимально взвешенным. Для персонифицированного выбора лечебной тактики и принятия клинического решения в аспекте восстановления фертильности у пациенток с наружным генитальным эндометриозом была разработана компьютерная программа для прогнозирования риска снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза. Для создания компьютерной модели прогнозирования были проанализированы клиничко-анамнестические данные, результаты иммуноферментного анализа и молекулярно-генетического типирования полиморфных вариантов генов-регуляторов апоптоза и ангиогенеза у пациенток репродуктивного возраста со значимым снижением овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза (n=30) и пациенток без значимого послеоперационного снижения овариального резерва (n=30).

Компьютерная программа прогнозирования снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза состоит из двух компонентов:

1. Модель машинного обучения с применением композиции алгоритмов открытой программной библиотеки градиентного бустинга CatBoost (Яндекс).

2. Веб-приложение (Python, Flask, HTML + Jinja2, CSS, JavaScript + AJAX).

Разработка модели машинного обучения, в свою очередь, состояла из нескольких этапов. На первом этапе для исключения возможных явлений мультиколлинеарности и переобучения модели был проведен корреляционный анализ признаков из базы данных пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом.

Количественные признаки не имели сильной корреляции между собой, поэтому были оставлены как значимые для исследования.

Бинарные признаки были отобраны с помощью p-value, рассчитанного с применением z-теста по формуле:

$$P(t) = P(T > t) = 1 - F(t),$$

где $T(X)$ – статистика,

$F(t)$ – функция распределения.

Для определения значимости категориальных данных рассчитывали коэффициент V Крамера по следующей формуле:

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2 / n}{\min((r - 1), (c - 1))}}$$

где r - количество строк матрицы сопряженности,

c - количество столбцов.

Результат формулы интерпретировали следующим образом: при значении 0 – переменные независимые, при значении 1 - полностью зависимые переменные.

Единственным признаком, имевшим корреляцию выше слабой, являлся признак «Генотип *VEGF-A*: -634». Остальные признаки не имели корреляции с целевой переменной.

На втором этапе проводилось машинное обучение модели. Для обучения модели использовались следующие алгоритмы и композиции алгоритмов:

- Logistic Regression,

- Decision Tree,
- Random Forest,
- XGBoost,
- CatBoost,

Самая высокая результативность модели была получена при использовании композиции алгоритмов CatBoost (Яндекс). Результат по метрике accuracy (показатель, описывающий общую точность предсказания модели по всем классам) - 95%, по метрике recall (показатель, измеряющий способность модели обнаруживать выборки, относящиеся к классу Positive) для класса пациенток с высоким риском снижения овариального резерва - 100%.

На третьем этапе проведен поиск предикторов значимого снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза. Для выявления предикторов был использован встроенный в CatBoost метод `get_feature_importance`, который выводит ранжированный список признаков с коэффициентом важности (`feature importance`) каждого признака (коэффициент влияния на модель).

Таким образом были отобраны 13 наиболее значимых клинико-генетических предикторов (таблица 49), вошедших в модель прогнозирования послеоперационного снижения овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом (расположены по уровню значимости):

- рецидив эндометриомы яичника;
- генотип *VEGF-A*: -634 GG;
- присутствие в генотипе вариантного аллеля -634 C гена *VEGF-A*;
- продолжительность менструации, дней;
- генотип *TP53*: Ex4+119 GG;
- М-ЭХО, мм;
- генотип *VEGF-A*: +936 CC;
- время с момента появления первых симптомов, лет;
- генотип *KITLG*: 80441 CC;

- срочные оперативные роды в анамнезе, количество;
- объем левого яичника по УЗИ, см³;
- уровень ФСГ в сыворотке крови, мМЕ/мл;
- объем правого яичника по УЗИ, см³.

Таблица 49 – Результат расчёта важности признаков (feature importance) для прогнозирования риска послеоперационного снижения овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, выполненный с помощью программы CatBoost (Яндекс).

№	Признак	Важность признака (feature importance), %
1	Рецидив эндометриомы яичника	18,3
2	Генотип <i>VEGF-A</i> : –634 GG	17,8
3	Присутствие в генотипе вариантного аллеля –634 С гена <i>VEGF-A</i>	11,6
4	Продолжительность менструации, дней	8,5
5	Генотип <i>TP53</i> : Ex4+119 GG	6,0
6	М-ЭХО, мм	4,0
7	Генотип <i>VEGF-A</i> : +936 CC	3,9
8	Время с момента появления первых симптомов, лет	3,5
9	Генотип <i>KITLG</i> : 80441 CC	3,0
10	Срочные оперативные роды в анамнезе, количество	3,0
11	Объем левого яичника по УЗИ, см ³	2,8
12	Уровень ФСГ в сыворотке крови, мМЕ/мл	2,6
13	Объем правого яичника по УЗИ, см ³	2,3

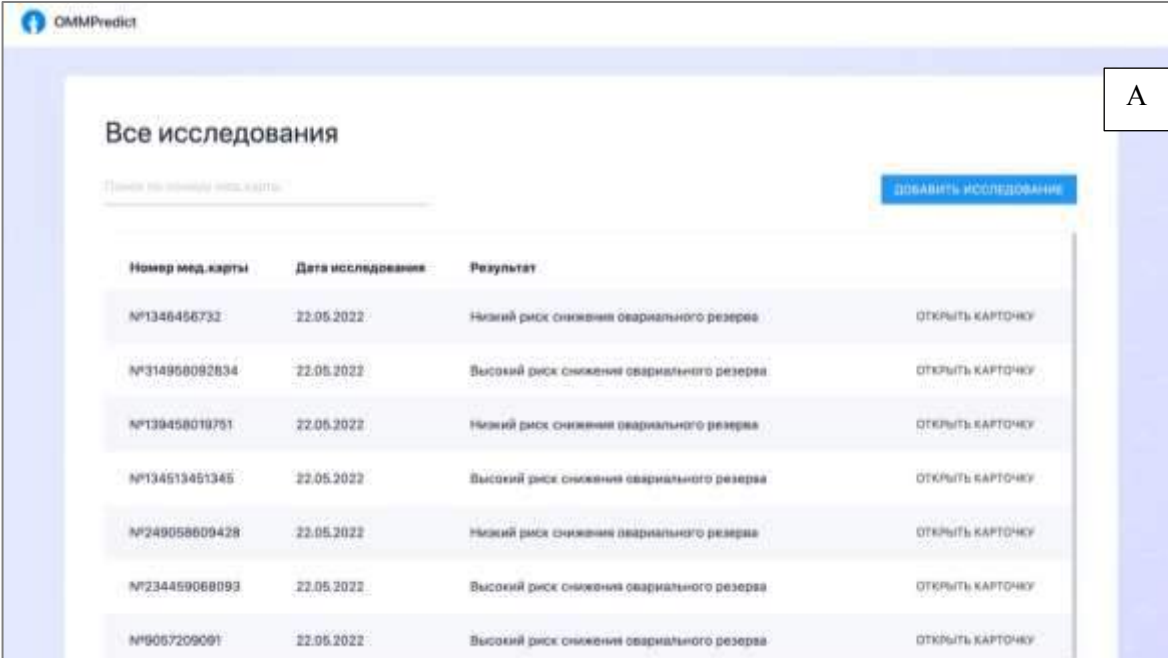
На данных признаках модель прогнозирования риска снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза показала такую же результативность: по метрике accuracy - 95%, по метрике recall для класса пациенток с высоким риском снижения овариального резерва- 100%.

На основании разработанной модели машинного обучения для удобного ее использования было создано веб-приложение. Для создания веб-сервиса

использовался актуальный стек технологий веб-разработки: HTML, CSS, JavaScript и Python Flask.

Веб-приложение имеет доступный интерфейс (рисунок 35) для удобного использования акушерами-гинекологами как на амбулаторном приеме, так и в стационаре для определения тактики ведения пациенток с инфильтративным эндометриозом. На основании введенных данных в программе отображается суммарный результат расчета риска, который представлен двумя вариантами – «Высокий риск снижения овариального резерва» и «Низкий риск снижения овариального резерва».

Таким образом, разработанный способ позволяет оптимизировать тактику ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом на основании прогнозирования рисков послеоперационного снижения овариального резерва, а также повысить эффективность стратегии восстановления фертильности у данной категории пациенток.



The screenshot shows the OMMPredict web application interface. At the top left is the logo and name 'OMMPredict'. The main heading is 'Все исследования' (All studies). Below it is a search bar with the placeholder text 'Поиск по номеру мед.карты' and a blue button labeled 'ДОБАВИТЬ ИССЛЕДОВАНИЕ'. The main content is a table with three columns: 'Номер мед.карты', 'Дата исследования', and 'Результат'. Each row includes a 'ОТКРЫТЬ КАРТОЧКУ' button. A small box with the letter 'A' is located in the top right corner of the screenshot.

Номер мед.карты	Дата исследования	Результат	
№1346466732	22.05.2022	Низкий риск снижения овариального резерва	ОТКРЫТЬ КАРТОЧКУ
№314958092834	22.05.2022	Высокий риск снижения овариального резерва	ОТКРЫТЬ КАРТОЧКУ
№139458019751	22.05.2022	Низкий риск снижения овариального резерва	ОТКРЫТЬ КАРТОЧКУ
№134513451345	22.05.2022	Высокий риск снижения овариального резерва	ОТКРЫТЬ КАРТОЧКУ
№249058609428	22.05.2022	Низкий риск снижения овариального резерва	ОТКРЫТЬ КАРТОЧКУ
№234459068093	22.05.2022	Высокий риск снижения овариального резерва	ОТКРЫТЬ КАРТОЧКУ
№9057209091	22.05.2022	Высокий риск снижения овариального резерва	ОТКРЫТЬ КАРТОЧКУ

Добавить исследование

Номер мед. карты
8901

Возраст, лет
6

Результат ультразвукового исследования
1

Масса матки, грам
0

Средний ультразвуковой индекс резистивности (SRI)
2

ИЗГ до операции, см/мин
2.66

ИЗГ после операции, см/мин
5.3

Уровень гемоглобина, г/л
18228

Уровень гематокрита, %
89958

Генотипы

GG → GG → TT → TT

ДОБАВИТЬ ИССЛЕДОВАНИЕ

Все исследования

Номер мед. карты	Дата исследования	Результат
№1348456733	22.05.2022	Низкий риск снижения овариального резерва
№314958092834	22.05.2022	Высокий риск снижения овариального резерва
№139488019781	22.05.2022	Низкий риск снижения овариального резерва
№134513451345	22.05.2022	Высокий риск снижения овариального резерва
№348058609428	22.05.2022	Низкий риск снижения овариального резерва
№234488068081	22.05.2022	Высокий риск снижения овариального резерва
№9087200081	22.05.2022	Высокий риск снижения овариального резерва

№314958092834
22.05.2022

Высокий риск снижения овариального резерва

Результат ультразвукового исследования
0

Масса матки, грам
3

Средний ультразвуковой индекс резистивности (SRI)
0

Половина периода овуляции (LH)
1

ИЗГ до операции, см/мин
3.29

ИЗГ после операции, см/мин
4.4

Уровень гемоглобина
10080

Уровень гематокрита
33.33

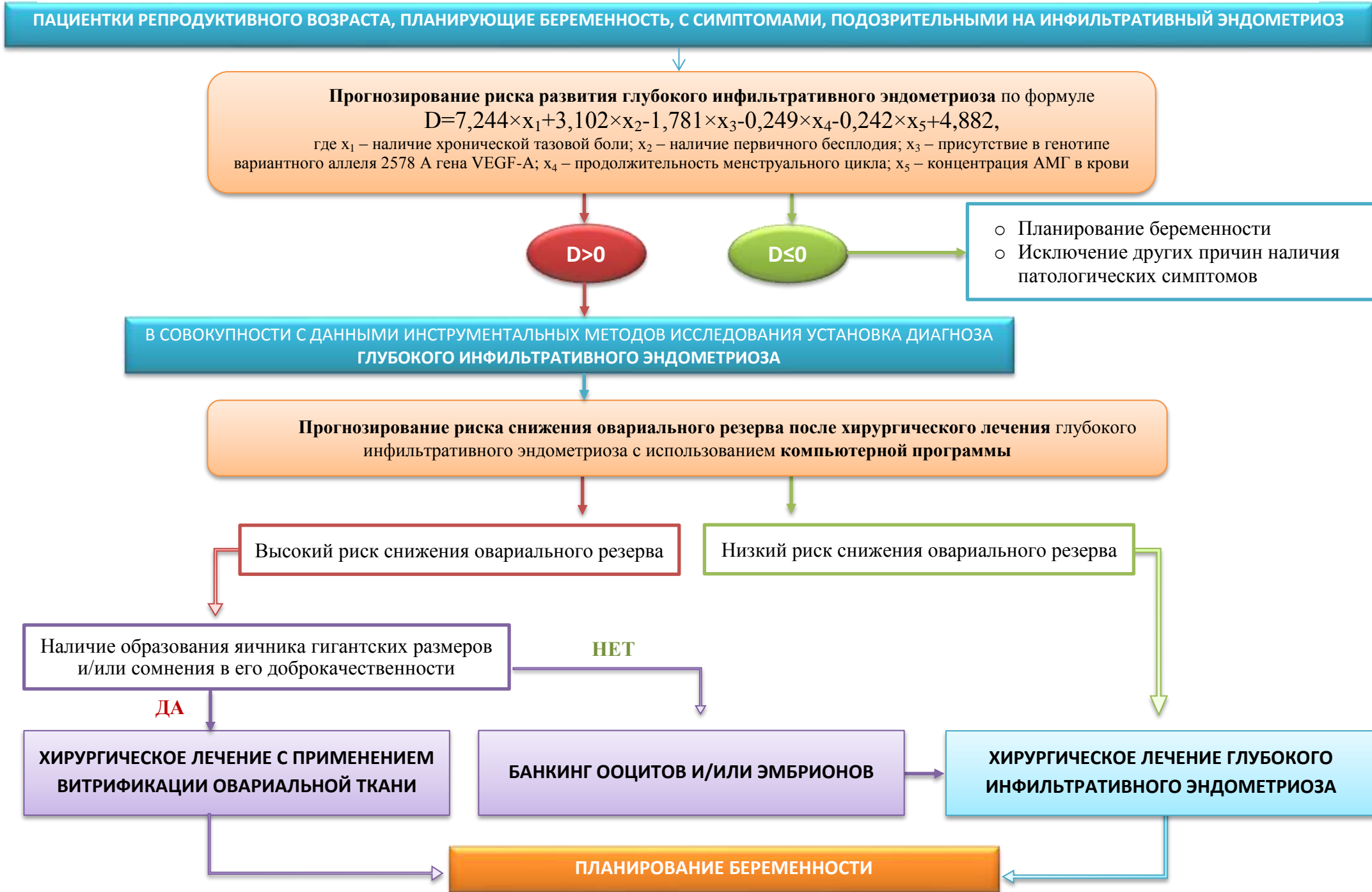
Рисунок 35 - Интерфейс веб-приложения компьютерной программы прогнозирования риска снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста. 35А – Страничка поиска пациентки по номеру медицинской карты/создания нового случая. 35Б - Страничка введения необходимых для расчета риска данных, полученных в ходе обследования пациентки. 35В – Страничка получения суммарного результата расчета риска.

На основании полученных в ходе настоящего исследования результатов и разработанных моделей прогнозирования был сформирован

персонифицированный алгоритм ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом, планирующих беременность (рисунок 36).

Пациенткам с глубоким инфильтративным эндометриозом и низким риском послеоперационного снижения овариального резерва на первом этапе может быть выполнено хирургическое лечение с последующим планированием беременности. В случае выявления у пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом высокого риска послеоперационного снижения овариального резерва пациентке перед проведением хирургического лечения может быть предложен банкинг ооцитов и/или эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий. В случае наличия у пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом и высоким риском послеоперационного снижения овариального резерва образования яичника гигантских размеров и/или сомнения в его доброкачественности, не позволяющие выполнить процедуру стимуляции овуляции и забора ооцитов, пациентке может быть проведено хирургическое лечение в сочетании с витрификацией овариальной ткани при условии гистологической верификации эндометриоза и исключения злокачественного заболевания по данным гистологии.

Рисунок 36 - Персонализированный алгоритм ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом, планирующих беременность



Резюме

С целью повышения эффективности и темпов диагностики глубокого инфилтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста методом пошагового дискриминантного анализа разработана математическая модель, позволяющая с чувствительностью 94,8% и специфичностью 94,5% прогнозировать риск развития данного заболевания. Наиболее информативными предикторами формирования глубокого инфилтративного эндометриоза по итогам дискриминантного анализа являются продолжительность менструального цикла, наличие хронической тазовой боли, первичного бесплодия, присутствие в генотипе вариантного аллеля 2578 А гена *VEGF-A*, а также концентрация антимюллера гормона в сыворотке крови.

Для персонифицированного выбора лечебной тактики и принятия клинического решения в аспекте восстановления фертильности у пациенток с наружным генитальным эндометриозом на основании анализа клинико-генетических параметров была разработана компьютерная программа для прогнозирования риска снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста после хирургического лечения глубокого инфилтративного эндометриоза.

Используя модель машинного обучения CatBoost, были отобраны 13 наиболее значимых клинико-генетических предикторов послеоперационного снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфилтративным эндометриозом. Для удобного использования разработанной модели было создано веб-приложение, имеющее удобный интерфейс, позволяющий использовать его акушерами-гинекологами как на амбулаторном приеме, так и в стационаре для определения тактики ведения пациенток с инфилтративным эндометриозом.

На основании разработанных моделей прогнозирования был усовершенствован персонифицированный алгоритм ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфилтративным эндометриозом,

позволяющий акушеру-гинекологу и репродуктологу выбрать оптимальную тактику восстановления и сохранения фертильности у данной категории женщин.

Материалы главы 5 представлены в следующих работах:

1. Способ прогнозирования риска снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза : приоритетная справка на патент №2022101452 от 24.01.2022 / **Е.О. Окулова**, О.А. Мелкозерова, А.А. Михельсон, Т.Б. Третьякова.
2. Способ прогнозирования риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза у женщин репродуктивного возраста : приоритетная справка на патент № 2022104346 от 22.02.2022 / **Е.О. Окулова**, О.А. Мелкозерова, А.А. Михельсон, Т.Б. Третьякова.

ОБСУЖДЕНИЕ

Каждая десятая женщина репродуктивного возраста страдает эндометриозом, а средний возраст постановки диагноза приходится на 27 лет. Учитывая распространенность и тяжесть жалоб, значимо снижающих качество жизни, в том числе психоэмоциональный статус, репродуктивную функцию и взаимоотношения с партнером у женщин репродуктивного возраста, эндометриоз остается одним из самых социально и демографически значимых заболеваний [59].

Одна из наиболее частых причин обращения больных эндометриозом за медицинской помощью – бесплодие, которым страдают от 25 до 50% пациенток с данным заболеванием. Эндометриоз выявляется у 58% женщин, подвергшихся лапароскопии, как конечному этапу обследования по поводу бесплодия [47, 175].

Бесплодие при эндометриозе может иметь ряд причин: нарушение анатомии тазовых органов, изменение свойств перитонеальной жидкости, изменение гормональных взаимодействий, эндокринные и овуляторные аномалии, нарушение имплантации, снижение качества ооцитов и эмбрионов, снижение транспортной функции маточных труб [4, 11, 72].

Среди разнообразных факторов, определяющих бесплодие или субфертильность у женщин с эндометриозом, наиболее важным является истощение пула остаточных фолликулов яичника [84, 147].

Исследования последних лет подтверждают снижение овариального резерва у пациенток с различными формами генитального эндометриоза, в том числе при глубоком инфильтративном эндометриозе [69, 157].

Глубокий инфильтративный эндометриоз является особой формой эндометриоза, при которой эктопические очаги прорастают на глубину более чем 5 мм в забрюшинное пространство. Для данной формы эндометриоза характерно тяжелое течение и поражение функции соседних органов [46].

Агрессивное течение глубокого инфильтративного эндометриоза ассоциировано с выраженным торможением процессов апоптоза и активацией неоангиогенеза в эктопической эндометрии. Более того, в эндометриоидных

инфильтратах выявляются генетические и эпигенетические мутации, участвующие в онкогенной трансформации [20, 118].

Активация антиапоптотических сигнальных путей и неоангиогенеза при эндометриозе не только способствует малигнизации процесса с развитием светлоклеточного и эндометриоидного рака яичников, но также может влиять на овариальный резерв при данном заболевании [115, 165].

Нарушение регуляции процессов апоптоза и ангиогенеза при эндометриозе в последние годы рассматривают, как одни из возможных причин снижения овариального резерва при данном заболевании вследствие преждевременной активации примордиальных фолликулов и раннего их истощения, а также нарушения фолликулярной оксигенации [22, 81, 102, 125].

Эффективным методом лечения при глубоком инфильтративном эндометриозе является лапароскопическое иссечение эндометриоидных очагов с последующей гормонотерапией [1, 33, 71, 80]. Однако, в настоящее время нет согласия о необходимости хирургического лечения как терапии первой линии у пациенток с инфильтративным эндометриозом в сочетании с нарушением фертильности. Это связано с тем, что эффективность хирургического лечения данной формы эндометриоза в отношении репродуктивных исходов является неопределенной из-за отсутствия рандомизированных исследований. Влияние хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза на овариальный резерв также является малоизученным [44, 95].

В руководстве Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) по эндометриозу говорится, что хотя не существует убедительных доказательств того, что оперативная лапароскопия при глубоком инфильтративном эндометриозе улучшает фертильность, оперативная лапароскопия может представлять собой вариант лечения у пациенток с симптомами, желающих забеременеть. У пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом решение предложить хирургическое иссечение очагов перед ВРТ должно основываться главным образом на наличии и

выраженности болевого синдрома и предпочтениях пациентки [95].

Несмотря на то, что недавние исследования демонстрирует эффективность сохранения фертильности при эндометриозе с применением криоконсервации ооцитов либо витрификации овариальной ткани, многие вопросы, такие как экономическая эффективность и безопасность, остаются нерешенными, а также отсутствуют четкие критерии отбора пациенток для применения данных методик [84, 105].

Для выбора оптимальной тактики ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом и решения вопроса о необходимости применения методов ВРТ, в том числе банкинга ооцитов, до оперативного лечения, необходимо понимать, каким образом хирургическое лечение повлияет на исходно скомпрометированный овариальный резерв. Для этого требуется поиск клинико-инструментальных, молекулярно-биологических и генетических предикторов снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста. Понимание механизмов снижения овариального резерва поможет найти ключ к выбору персонифицированной тактики ведения пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, страдающих бесплодием и улучшить репродуктивные исходы.

Все вышеизложенное и определило цель данной работы. На первом этапе с целью оценки влияния глубокого инфильтративного эндометриоза и его хирургического лечения на состояние овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста проведено проспективное когортное исследование.

Пациентки групп наблюдения были сопоставимы по возрасту, антропометрическим данным и социальному статусу.

Наиболее характерными жалобами пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом являлись хроническая тазовая боль, дисменорея, диспареуния и бесплодие. Болезненный характер менструаций выявлен более, чем у половины пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом. Данные симптомы значительно снижают качество жизни пациенток с глубоким инфильтративным

эндометриозом, а также влияют на психоэмоциональный статус женщины, вынуждая обращаться за медицинской помощью [6, 7, 34, 49].

Возраст менархе и длительность менструального кровотечения в группах наблюдения не имели достоверных различий. Значимым клиническим проявлением инфильтративного эндометриоза являлась более короткая продолжительность менструального цикла у пациенток основной группы. Этим объясняется тот факт, что пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом значимо чаще страдали хронической анемией, чем пациентки группы сравнения.

В структуре гинекологической патологии у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом значимо чаще, чем у пациенток группы сравнения, наблюдались эктопия шейки матки, врожденные пороки развития внутренних половых, а также миома матки. Сочетание эндометриоза с пороками развития внутренних половых органов может быть обусловлено более частой ретроградной менструацией в связи с нарушением оттока менструальной крови у пациенток с пороками матки и влагалища, а также общими патогенетическими путями развития на этапе раннего эмбриогенеза [5]. Этими же механизмами может быть обусловлено более частое сочетание эндометриоза и заболеваний шейки матки. Более частое сочетание глубокого инфильтративного эндометриоза и миомы матки может быть связано с общими патогенетическими механизмами развития данных заболеваний, в том числе нарушение регуляции механизмов апоптоза, пролиферации и неоангиогенеза [10].

По результатам проведенного исследования выявлено, что пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом имели значимо меньшее число беременностей и родов в своей жизни. У каждой третьей из них, наступившая беременность была единственной, а около половины страдали бесплодием, в структуре которого преобладало первичное эндометриоз-ассоциированное бесплодие, что потребовало более частого, чем в группе сравнения, применения методов вспомогательных репродуктивных технологий. Поиск возможных

механизмов развития бесплодия при глубоком инфильтративном эндометриозе, а также путей воздействия на них является актуальной проблемой [41].

Одной из важных причин бесплодия у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом является снижение овариального резерва [69].

В настоящей работе выявлено, что у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом еще на дооперационном этапе отмечалось значимое снижение овариального резерва, в том числе уровня антимюллерова гормона, количества антральных фолликулов в сравнении со второй группой в сопоставимых возрастных коридорах, и, важно подчеркнуть, вне зависимости от наличия эндометриомы яичника. При оценке состояния овариального резерва через 6 месяцев после проведенного хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза отмечено значимое его снижение по сравнению с исходным уровнем как у пациенток перенесших цистэктомию эндометриомы яичника, так и у пациенток с интактными яичниками.

На втором этапе было проведено исследование «случай-контроль» для выявления предикторов снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза. Методом математического моделирования с помощью перестановочного критерия при построении доверительных интервалов медианных значений бустраптных выборок были выработаны информативные критерии (дельты снижения АМГ и КАФ) для оценки значимости снижения овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом после проведения хирургического лечения. В соответствии с данными критериями пациентки основной группы были разделены на две подгруппы в зависимости от наличия значимого снижения овариального резерва после хирургического лечения. Далее из двух выборок были сформированы копи-пары, критериями сопоставимости которых являлись возраст, исходное состояние овариального резерва, наличие эндометриомы яичника, ее размеры и латеральность.

Таким образом, на дооперационном этапе уровни АМГ, ФСГ и эстрадиола в сыворотке крови, а также количество антральных фолликулов в яичниках при

трансвагинальном УЗИ у пациенток обеих групп статистически значимо не различались. Несмотря на это, пациентки с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва значимо чаще страдали бесплодием и реже имели в анамнезе срочные роды, чем пациентки без выраженного послеоперационного снижения овариального резерва.

Значимое послеоперационное снижение овариального резерва было отмечено у пациенток с большей длительностью течения заболевания, диагноз глубокого инфильтративного эндометриоза у которых был установлен в среднем за 2 года до операции, тогда как пациенткам второй группы диагноз был установлен менее 1 года назад. Это может быть обусловлено более длительным влиянием патологического микроокружения, возникающего вокруг эндометриоидных инфильтратов, на фолликулярный аппарат яичников [112, **Ошибка! Источник ссылки не найден.**].

Важно отметить, что не было выявлено статистически значимых различий в частоте хирургических вмешательств на яичниках в анамнезе, а также в частоте других гинекологических операций у пациенток в данных подгруппах. Также не выявлено значимых различий в локализации иссеченных эндометриоидных очагов, особенностях хирургического вмешательства, тяжести эндометриоза по классификации R-AFS, а также частоте цистэктомии эндометриомы яичника между пациентками с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва и пациентками без выраженного послеоперационного снижения овариального резерва.

Тем не менее, через 6 месяцев после хирургического лечения у пациенток первой группы было отмечено снижение медианы уровня АМГ в сыворотке крови более, чем на 1,2 нг/мл, тогда как во второй группе послеоперационный уровень АМГ снизился не более, чем на 0,2 нг/мл. Вышеизложенные результаты позволяют предположить наличие иных, кроме хирургического вмешательства, механизмов снижения овариального резерва после иссечения инфильтративного эндометриоза. Данные обстоятельства диктуют необходимость поиска новых критериев овариального ответа на хирургическое лечение глубокого

инфильтративного эндометриоза, основанных на молекулярно-биологических механизмах его развития и прогрессирования.

Недавно разработанный К. Kawamiga с соавт. (2013) метод *in vitro* активации первичных фолликулов у пациенток с первичной недостаточностью яичников привлек внимание к роли антиапоптотического киназного сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в регуляции овариального резерва. Это один из универсальных внутриклеточных сигнальных путей, характерный для большинства клеток человека, который отвечает за уход от апоптоза, рост и пролиферацию клеток [120].

В экспериментах на трансгенных животных было доказано, что сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR играет важную роль в раннем фолликулогенезе и участвует в активации примордиальных фолликулов [155]. В то же время, данный сигнальный путь играет значимую роль в прогрессировании эндометриоза, активируя пролиферацию и подавляя апоптоз эндометриоидных клеток [170].

В современной мировой литературе представлено множество исследований, подтверждающих значимую роль мутаций гена *PIK3CA*, центрального регулятора киназного пути PI3K/Akt/mTOR, в развитии онкологических заболеваний, в том числе рака яичников [64, 65, 97, 116, 144].

В последние годы широко обсуждается роль мутаций гена *PIK3CA* в патогенезе инфилтративного эндометриоза [63]. В нескольких крупных многоцентровых исследованиях у пациенток с глубоким инфилтративным эндометриозом были выявлены мутации онкогенов, в том числе гена *PIK3CA*, в очагах эндометриоза методом секвенирования ДНК нового поколения, а также методом капельной ПЦР [67, 127].

С целью выявления мутаций гена *PIK3CA* как одной из возможных причин снижения овариального резерва у пациенток с глубоким инфилтративным эндометриозом нами проведено секвенирование ДНК нового поколения в образцах тканей эндометриом яичников у пациенток с инфилтративным эндометриозом, сочетающимся с эндометриоидными кистами яичников, а также в биоптатах корковой ткани яичника у всех пациенток основной группы и группы

сравнения. В нашей работе не было выявлено известных активирующих мутаций в гене *PIK3CA* методом секвенирования ДНК нового поколения среди пациенток с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что активации сигнального пути PI3K/AKT/mTOR в овариальной ткани при глубоком инфильтративном эндометриозе, по-видимому, происходит посредством иных патогенетических механизмов, не связанных с мутацией гена *PIK3CA*.

С целью поиска других молекулярно-генетических предикторов снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе было выполнено типирование полиморфных вариантов генов, кодирующих белки, участвующие в регуляции апоптоза (*C-KIT*:2600G>A, *KITLG*:80441 C>T, *TP53*:Ex4+119 G>C (Arg72Pro) и ангиогенеза (*VEGF-A*:+12143 C>A, *VEGF-A*:–2578C>A, *VEGF-A*:–634 G>C, *VEGF-A*:+936C>T).

В результате исследования выявлено, что вариант гена-регулятора апоптоза *TP53*: Ex4+119 CC регистрировался значительно чаще у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, чем у пациенток группы сравнения.

При анализе рецессивной модели распределения частот генотипов у женщин основной группы выявлена статистически значимо большая, чем у женщин группы сравнения, частота полиморфного маркера Ex4+119 G>C гена *TP53*. Генотип Ex4+119 CC гена *TP53* можно расценивать как генотип «риска» развития глубокого инфильтративного эндометриоза, так как его носительство увеличивает риск развития данного заболевания. Напротив, присутствие в генотипе вариантного аллеля Ex4+119 G в гомо- или гетерозиготном состоянии снижает шанс развития глубокого инфильтративного эндометриоза.

Ген *TP53* служит одним из ключевых генов-супрессоров опухолевого роста, являясь транскрипционным фактором свыше 300 генов, отвечающих за активацию таких жизненно важных процессов, как репликация, репарация ДНК, апоптоз, антиоксидантная защита и др. Точечная замена гуанина на цитозин в 72-м кодоне 4-го экзона (Ex4+119G>C, Arg72Pro, rs 1042522) является наиболее значимым полиморфизмом гена *TP53*, ассоциированным с риском развития

злокачественных новообразований у человека [92, 121].

Исследования полиморфизмов гена TP53 нашли свое широкое применение в области онкологии и взаимосвязь между полиморфизмами данного гена и риском развития эндометриоза долгое время оставалась спорной. Однако, проведенные мета-анализы, включившие более 15 исследований из различных стран, выявили положительную связь полиморфизма TP53:Ex4+119 G>C (Arg72Pro) с риском развития эндометриоза [133, 187].

Vagnini LD. и соавт. (2015) в исследовании на 605 пациентках репродуктивного возраста с бесплодием установили, что носительство полиморфизма rs4648551 A>G гена TP73, кодирующего изоформу p73 белка p53, ассоциировано со снижением овариального резерва в виде уменьшения уровня АМГ в крови, а также количества антральных фолликулов по данным УЗИ.

В то же время, Vagnini LD. и соавт. в серии исследований установили, что носительство полиморфизмов rs4648551 A>G и rs3765730 G>A гена TP73, кодирующего изоформу p73 белка p53, и полиморфизма rs1625895 T>C гена TP53 ассоциированы с риском снижения овариального резерва в виде уменьшения уровня АМГ в крови, а также количества антральных фолликулов по данным УЗИ [176, 177].

Основываясь на результатах нашего исследования в совокупности с данными литературы можно предположить, что носительство полиморфизма TP53:Ex4+119 G>C (Arg72Pro) оказывает значимое влияние на снижение овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом.

Результаты проведенного анализа доминантной модели распределения частот генотипов выявили значимость полиморфного маркера VEGF-A: +12143 C>A в риске развития глубокого инфильтративного эндометриоза: присутствие в генотипе вариантного аллеля +12143 А в гомо- или гетерозиготном состоянии повышает риск развития данной патологии. Генотип VEGF-A: +12143 СС, наоборот, дает протективный эффект в отношении развития глубокого инфильтративного эндометриоза.

В последние годы активно изучается роль сосудисто-эндотелиального

фактора роста, как ключевого регулятора ангиогенеза, в развитии эндометриоза. Исследования последних лет демонстрируют повышенное содержание VEGF в перитонеальной жидкости, эндометриозе и эктопическом эндометрии больных эндометриозом, коррелирующее со стадией заболевания [74, 109, 132, 171].

При этом исследования полиморфных вариантов гена VEGF при эндометриозе имеют противоречивые результаты [141]. В то время как некоторые исследования не выявили ассоциации полиморфизмов гена *VEGF* с риском развития эндометриоза [154], Cardoso JV. и соавт. в исследовании с участием 516 пациенток продемонстрировали положительную корреляцию между однонуклеотидными заменами -2578 C>A и -1154G>A гена *VEGF* и риском развития эндометриоза. Комбинированный анализ генотипов *VEGF-VEGFR2* выявил роль межгенных взаимодействий в предрасположенности к эндометриозу [78].

Более того, недавние исследования установили, что высокая интрафолликулярная концентрация VEGF в преовуляторных фолликулах, возникающая в ответ на гипоксию, отрицательно коррелирует с уровнем овариального резерва и скоростью созревания яйцеклеток [185]. Также установлено, что пациентки на ранних стадиях преждевременной недостаточности яичников имеют измененный цитокиновый профиль, характеризующийся повышением хемокинов и факторов роста, в том числе сосудистого эндотелиального фактора роста [135].

Полученные данные говорят о важной роли носительства полиморфизмов гена *VEGF* в нарушении регуляции овариального ангиогенеза и фолликулярной оксигенации у пациенток с эндометриозом.

В последние годы считается, что отдельные генетические варианты вносят достаточно низкий вклад в формирование патологического фенотипа, поэтому для понимания ключевых звеньев патогенеза заболевания следует анализировать межгенные и генно-средовые взаимодействия, играющие роль в формировании клинического фенотипа заболевания.

Современным подходом для моделирования межгенных взаимодействий

является биоинформатический метод сокращения многофакторной размерности (MDR). По данным многофакторного анализа была сформирована трехлокусная модель *C-KIT* (2600G/A) x *VEGF-A* (-2578C/A) x *TP53* (Ex4+119 G/C), характеризовавшаяся чувствительностью 93% и специфичностью 91%.

Согласно данной прогностической модели в патогенезе глубокого инфильтративного эндометриоза играет роль сочетание однонуклеотидных полиморфизмов генов, регулирующих антиапоптотический сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR (*C-KIT*: 2600G>A), p53-зависимый апоптоз (*TP53*: Ex4+119 G>C) и ангиогенез (*VEGF-A*: -2578C>A). Наличие сочетания однонуклеотидных полиморфизмов данных генов свидетельствует о высоком риске развития у пациентки глубокого инфильтративного эндометриоза, ассоциированного со снижением овариального резерва.

Полученные данные демонстрируют некоторые молекулярно-генетические механизмы сочетанной дисрегуляции апоптоза и ангиогенеза, лежащие в основе снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе у пациенток репродуктивного возраста.

Для оценки значения экспрессии регуляторов апоптоза, ангиогенеза и рецепторов половых гормонов при глубоком инфильтративном эндометриозе в аспекте посттранскрипционной регуляции параметров овариального резерва было проведено иммуногистохимическое исследование корковой ткани яичника, а также стромы и желез эндометриоидных очагов.

По результатам иммуногистохимического исследования было выявлено снижение экспрессии рецепторов к эстрогену в гранулезной ткани яичников у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, наиболее выраженное у пациенток со значимым послеоперационным снижением овариального резерва. Снижение экспрессии эстрогеновых рецепторов в строме и железах эндометриоидных очагов также коррелировало с послеоперационным снижением овариального резерва.

Несмотря на то, что прогрессирование эндометриоза характеризуется эстроген-зависимым ростом эктопического эндометрия и резистентностью к

прогестерону [24, 42, 45, 126, 142], исследования последних лет демонстрируют пониженную экспрессию эстрогеновых рецепторов в эутопическом эндометрии, а также в стенках эндометриом яичников у пациенток с генитальным эндометриозом [91, 131]. При этом атипичный эндометриоз яичников, обладающий предраковым потенциалом, а также глубокий инфильтративный эндометриоз сопровождаются более выраженным снижением экспрессии рецепторов к эстрогену в эутопическом и эктопическом эндометрии [94, 119].

С учетом полученных в ходе настоящего исследования данных можно предположить, что в снижении овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом определенную роль играет уменьшение степени дифференцировки эктопического эндометрия и формирование резистентности к эстрогенам в гранулезной ткани яичников, что проявляется снижением экспрессии рецепторов к ним.

Результаты настоящего исследования указывают на подавление проапоптотического сигнального пути p53-BAH-каспаза-3 в эндометриоидных очагах и его активацию в гранулезной ткани яичников у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, особенно выраженные у пациенток с послеоперационным снижением овариального резерва.

Исследования последних лет демонстрируют повышение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 и снижение экспрессии проапоптотических белков BAX (Bcl-2-ассоциированного X-белка) и p53, а также кодирующих их генов в стромальной и железистой ткани эндометриоидных очагов [90, 94]. В то же время, в корковой ткани яичников, окружающей эндометриоидные кисты, а также в фолликулярной жидкости больных эндометриозом обнаруживается повышенный уровень проапоптотических маркеров (p53, BAX, транскрипционного фактора NFkB и каспаз 3 и 8) по сравнению с контрольными яичниками [81, 91].

В свою очередь, Zhou S. и соавт. в недавнем исследовании на мышинной модели продемонстрировали значимую роль апоптотического сигнального пути p53-BAH-каспаза-3 в старении яичников. Они показали, что ингибирование

фосфатазы WIP1, экспрессия которой снижается с возрастом, ускоряет атрезию примордиальных фолликулов путем активации пути p53-BAH-каспаза-3 [194]. В более ранних исследованиях было установлено, что ингибирование гомологов белка p53 защищает функцию яичников, подавляя апоптотические пути, запускаемые противоопухолевой терапией, в частности, циклофосфамидом [75, 122].

Полученные в ходе настоящего исследования данные указывают на усиление p53-зависимого апоптоза гранулезных клеток яичников при глубоком инфильтративном эндометриозе, которое может лежать в основе снижения овариального резерва при эндометриоз-ассоциированном бесплодии.

Наряду с этим, результаты проведенного иммуногистохимического исследования демонстрируют активацию антиапоптотического сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в клетках гранулезы яичников у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом, наиболее выраженную у пациенток с послеоперационным снижением овариального резерва.

В недавних исследованиях установлено, что сверхактивация сигнального пути PI3K/Akt/mTOR приводит к развитию преждевременной недостаточности яичников вследствие ускоренного роста примордиальных фолликулов и раннего их истощения. Ингибирование же данного сигнального пути защищает примордиальные фолликулы от сверхактивации и приводит к сохранению овариального резерва [136, 173].

В последние годы также установлено, что при эндометриозе активация сигнального пути PI3K/Akt/mTOR отмечается не только в эндометриоидных очагах, но и в корковой ткани яичников, что сопровождается уменьшением доли примордиальных фолликулов [170].

Все это в совокупности с полученными в ходе настоящего исследования данными свидетельствуют о том, что активация антиапоптотического сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в гранулезной ткани яичника при глубоком инфильтративном эндометриозе может приводить к преждевременному истощению овариального резерва. В ответ на чрезмерную активность

PI3K/Akt/mTOR киназного пути нами была отмечена компенсаторная сенсбилизация клеток коркового вещества яичников к p53-зависимому апоптозу. Таким образом формируется порочный патогенетический круг, который приводит к ускоренной и необратимой утрате фолликулярного резерва.

Данные результаты могут помочь в выборе оптимальной тактики ведения пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом для восстановления их фертильности и успешной реализации репродуктивной функции. На стадии активации только антиапоптотического сигнального пути PI3K/Akt/mTOR хирургическое лечение может стать методом выбора для пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом в аспекте сохранения овариального резерва. На стадии присоединения компенсаторной активации p53-ассоциированного апоптоза методы вспомогательных репродуктивных технологий и банкинг ооцитов могут быть предпочтительнее, так как хирургическое лечение в этом случае несет риск дальнейшего снижения овариального резерва.

При оценке уровня экспрессии регуляторов ангиогенеза было выявлено, что экспрессия рецептора-1 сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-R1) была значимо выше в гранулезной ткани яичника у пациенток с послеоперационным снижением овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза. В то же время, в стомальной и железистой ткани эндометриоидных очагов у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва экспрессия VEGF-R1 была значимо выше, чем у пациенток без послеоперационного снижения овариального резерва.

Рецептор VEGFR-1 является высокоаффинным рецептором тирозинкиназы для VEGF, при этом биологическая роль VEGFR-1 очень сложна. Несмотря на то, что VEGFR-1 взаимодействует с лигандом с наивысшей аффинностью, предполагают, что он функционирует главным образом в качестве ловушки для VEGF-A, ингибируя VEGF-опосредованную сигнализацию. Однако, в последние годы описаны новые функции рецептора VEGFR-1, в частности, показана позитивная регуляция ангиогенеза через активацию протеиназ и экспрессию

факторов роста, а также участие в опухолевой прогрессии путем усиления клеточной миграции и инвазии [30].

В отличие от VEGF-A, который воздействует в основном через рецептор VEGFR-2, сосудисто-эндотелиальный фактор роста В (VEGF-B) и плацентарный фактор роста (PlGF) связываются и активируются только через рецептор VEGFR-1. Первоначальные исследования о VEGF-B, как члене семейства VEGF, были сосредоточены на его роли в ангиогенезе, но позже установили, что VEGF-B напрямую не участвует в неоангиогенезе как в нормальных условиях, так и при сверхэкспрессии. Доказано, что VEGF-B отвечает за защиту клеток от апоптоза, способствуя росту и инвазии тканей [129].

Помимо этого, в недавних исследованиях продемонстрировано, что VEGF-B оказывает пролиферативную активность через сигнальный путь VEGFR1-PI3K/Akt/mTOR. Таким образом, активация рецептора VEGFR1 способна блокировать апоптоз через запуск антиапоптотического сигнального пути PI3K/Akt/mTOR [134].

Таким образом, выявленное в настоящем исследовании усиление экспрессии VEGF-R1 в гранулезной ткани яичника у пациенток с послеоперационным снижением овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза может говорить о повышенной пролиферативной активности, ведущей к преждевременной активации примордиальных фолликулов, а также снижению фолликулярной оксигенации вследствие конкурентного захвата и блокирования VEGF-A в яичниках у данной категории пациенток. Снижение же экспрессии VEGF-R1 в тканях эндометриоидных очагов у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва может быть связано с преобладанием в эндометриоидных очагах у данных пациенток VEGF-A-связанного ангиогенеза.

Полученные в ходе настоящего исследования результаты позволили разработать способ прогнозирования риска развития глубокого инфильтративного эндометриоза, а также способ прогнозирования риска снижения овариального резерва после хирургического лечения глубокого инфильтративного

эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста на основании клинико-генетических маркеров.

Для удобного использования данной модели акушерами-гинекологами как на амбулаторном приеме, так и в стационаре была разработана компьютерная программа для прогнозирования риска снижения овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза, имеющая доступный интерфейс.

На основании разработанных моделей прогнозирования был усовершенствован персонифицированный алгоритм ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом, позволяющий акушеру-гинекологу и репродуктологу выбрать оптимальную тактику восстановления и сохранения фертильности у данной категории женщин.

Пациенткам с глубоким инфильтративным эндометриозом и низким риском послеоперационного снижения овариального резерва на первом этапе может быть выполнено хирургическое лечение с последующим планированием беременности. В случае выявления у пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом высокого риска послеоперационного снижения овариального резерва пациентке перед проведением хирургического лечения может быть предложен банкинг ооцитов и/или эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий. В случае наличия у пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом и высоким риском послеоперационного снижения овариального резерва образования яичника гигантских размеров и/или сомнения в его доброкачественности, не позволяющие выполнить процедуру стимуляции овуляции и забора ооцитов, пациентке может быть проведено хирургическое лечение в сочетании с витрификацией овариальной ткани при условии гистологической верификации эндометриоза и исключения злокачественного заболевания по данным гистологии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на противоречивые данные мировой научной литературы относительно выявления мутаций гена *PIK3CA* при эндометриозе, а также отсутствие мутаций данного гена по результатам нашего исследования, многочисленные зарубежные публикации подтверждают активацию сигнального пути PI3K/AKT/mTOR при эндометриозе. Дальнейшее изучение мутаций и генной экспрессии комплекса генов, кодирующих белки-регуляторы антиапоптотического сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, помогут раскрыть роль данного механизма в истощении овариального резерва при инфильтративной форме наружного генитального эндометриоза.

На основании полученных в ходе настоящего исследования результатов можно заключить, что на стадии активации только антиапоптотического сигнального пути PI3K/Akt/mTOR хирургическое лечение может стать методом выбора для пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом в аспекте сохранения овариального резерва. На стадии присоединения компенсаторной активации p53-ассоциированного апоптоза методы вспомогательных репродуктивных технологий и банкинг ооцитов могут быть предпочтительнее, так как хирургическое лечение в этом случае несет риск дальнейшего снижения овариального резерва. Будущие исследования должны быть направлены на разработку малоинвазивных тест-систем, способных определять стадии дисрегуляции процессов апоптоза при глубоком инфильтративном эндометриозе.

ВЫВОДЫ

1. Хирургическое лечение глубокого инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста в 42,86% случаев приводит к снижению овариального резерва, исходно скомпрометированного заболеванием, независимо от возраста и наличия эндометриомы яичника. Это проявляется уменьшением уровня антимюллера гормона в сыворотке крови (1,18 (0,51÷2,08) нг/мл) в сравнении с исходным показателем (2,13 (0,96÷2,99) нг/мл), $p<0,001$) и количества антральных фолликулов в яичниках по данным трансвагинального УЗИ (6,00 (4,00÷9,00) в сравнении с исходным числом 7,50 (5,00÷10,00), $p=0,001$), а также повышением уровня фолликулостимулирующего гормона в крови (7,43 (5,69÷9,61) мМЕ/мл) по сравнению с исходным уровнем (6,60 (4,26÷9,37) мМЕ/мл), $p=0,008$).
2. Клинико-anamнестическими детерминантами снижения овариального резерва у пациенток после хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза являются бесплодие (63,3%, ОШ 2,983 (95%ДИ 1,044; 8,527); $p=0,039$) с преобладанием первичного эндометриоз-ассоциированного бесплодия (53,3%, ОШ 4,571 (95% ДИ 1,452; 14,389); $p=0,008$), а также длительность течения заболевания 2 года и более ($1,99\pm 3,53$ года, $p=0,035$).
3. Молекулярно-генетическими предикторами развития глубокого инфильтративного эндометриоза и ассоциированного с ним снижения овариального резерва являются носительство полиморфизмов *TP53*: Ex4+119 G>C (ОШ=2,43 (95% ДИ 1,12; 5,27); $p<0,03$) и *VEGF-A*: +12143 C>A (ОШ=2,18 (95% ДИ 1,03; 4,61); $p<0,05$), а также сочетание однонуклеотидных полиморфизмов генов *C-KIT*: 2600G>A, *TP53*: Ex4+119 G>C, *VEGF-A*: -2578C>A (чувствительность трехлокусной модели - 93%, специфичность – 91%, $p<0,001$).
4. В корковой ткани яичника у пациенток с выраженным послеоперационным снижением овариального резерва отмечается формирование резистентности к эстрогенам, что проявляется уменьшением экспрессии рецепторов к нему

($1,17 \pm 0,36$ баллов H-score, $p=0,003$), а также подавление ангиогенного потенциала в виде усиления экспрессии VEGFR1 ($1,86 \pm 0,75\%$, $0,015$). Послеоперационное снижение овариального резерва у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом ассоциировано с активацией антиапоптотического сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в гранулезной ткани яичника, проявляющейся уменьшением экспрессии PTEN ($48,20 \pm 22,11\%$, $p=0,025$), сенсбилизацией к p53-зависимому апоптозу в виде усиления экспрессии p53 ($3,40 \pm 3,16\%$, $p=0,036$) и ослабления экспрессии Bcl-2 ($86,58 \pm 44,68$ баллов H-score, $p=0,047$).

5. Усовершенствованный алгоритм ведения пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом на основании разработанной компьютерной программы прогнозирования послеоперационного снижения овариального резерва с общей эффективностью 95%, чувствительностью 94,8% и специфичностью 94,5% позволяет персонифицировать выбор верной лечебной тактики в аспекте восстановления фертильности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обращении пациенток репродуктивного возраста, планирующих беременность, с симптомами, подозрительными на глубокий инфильтративный эндометриоз (хроническая тазовая боль, диспареуния, бесплодие), наряду с общеклиническим обследованием необходимо производить молекулярно-генетическое типирование полиморфных вариантов генов-регуляторов ангиогенеза, а также определять концентрацию уровня антимюллера гормона в крови с последующей оценкой риска наличия глубокого инфильтративного эндометриоза по разработанной формуле.
2. У пациенток репродуктивного возраста с высоким риском развития глубокого инфильтративного эндометриоза для персонифицированного выбора лечебной тактики и принятия клинического решения в аспекте восстановления фертильности, помимо оценки анамнестических данных и УЗИ, необходимо определять концентрацию половых гормонов (АМГ, ФСГ) в сыворотке крови, а также проводить молекулярно-генетическое типирование полиморфных вариантов генов-регуляторов апоптоза и ангиогенеза для расчета риска послеоперационного снижения овариального резерва с использованием разработанной компьютерной программы.
3. Согласно разработанному алгоритму, пациенткам с глубоким инфильтративным эндометриозом и низким риском послеоперационного снижения овариального резерва по результатам расчета с использованием компьютерной программы на первом этапе может быть выполнено хирургическое лечение с последующим планированием беременности.
4. В случае выявления у пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом высокого риска послеоперационного снижения овариального резерва по результатам компьютерного расчета пациентке перед проведением хирургического лечения может быть предложен банкинг ооцитов и/или эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий.
5. В случае наличия у пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом и высоким риском послеоперационного снижения овариального резерва образования яичника гигантских размеров и/или

сомнения в его доброкачественности, не позволяющие выполнить процедуру стимуляции овуляции и забора ооцитов, пациентке показано проведение хирургического лечения в сочетании с витрификацией овариальной ткани при условии гистологической верификации эндометриоза и исключения злокачественного заболевания по данным гистологии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АМГ – антимюллеров гормон
- ВРТ - вспомогательные репродуктивные технологии
- ГИЭ – глубокий инфильтративный эндометриоз
- ИГХ – иммуногистохимическое исследование
- ИМТ – индекс массы тела
- ИФА – иммуноферментный анализ
- КАФ – количество антральных фолликулов
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
- ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
- Akt - протеинкиназа B
- bcl-2 – транскрипционный ингибитор апоптоза клеток
- E₂ - эстрадиол
- ER – рецептор к эстрадиолу
- Ki-67 – маркер пролиферации клеток
- LIF – лейкемию ингибирующий фактор
- LIF-R – рецептор к лейкемию ингибирующему фактору
- mTOR - мишень рапамицина млекопитающих
- NS – no significans – различия статистически не значимы ($p>0.05$)
- p-53 – транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл
- PI3K - фосфоинозитид-3-киназа
- PR – рецептор к прогестерону
- PTEN - фосфатаза и гомолог тензина
- VEGF – сосудисто-эндотелиальный фактор роста
- VEGF-R – рецептор к сосудисто-эндотелиальному фактору роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян, Л.В. Новое в репродуктивной хирургии: одноэтапный хирургический метод активации функции яичников / Л.В. Адамян, В.О. Дементьева, А.В. Асатурова // Акушерство и гинекология. - 2019. - № 3. - С. 147-151.
2. Адамян, Л.В. Современные тенденции в хирургическом лечении инфильтративных форм эндометриоза / Л.В. Адамян, К.Н. Арсланян, М.М. Сонова и др. // Проблемы репродукции. – 2019. – № 5. – С. 36-41.
3. Адамян, Л.В. Фолликулогенез яичников женщин с некоторыми формами эндометриоза / Л.В. Адамян, Л.Ф. Курило, И.Ю. Шуляк // Проблемы репродукции. - 2009. – № 1. – С. 78-85.
4. Адамян, Л.В. Патогенетические аспекты эндометриоз-ассоциированного бесплодия / Л.В. Адамян, Д.Ф. Салимова, Л.М. Кондратович // Проблемы репродукции. – 2015. – № 6. – С. 90-96.
5. Адамян, Л.В. Аплазия матки и влагалища (синдром Майера-Рокитанского-Кюстера-Хаузера) в сочетании с эндометриозом: нерешенные аспекты этиологии и патогенеза (обзор литературы) / Л.В. Адамян, А.Ю. Попрядухин, А.С. Аракелян и др. // Проблемы репродукции. – 2016. – № 3. – С. 8-14.
6. Адамян, Л.В. Особенности хронической тазовой боли у пациенток с наружным генитальным эндометриозом / Л.В. Адамян, М.М. Сонова, К.Н. Арсланян и др. // Лечащий врач. – 2019. - № 9. – С. 83-87.
7. Адамян, Л. В. Эндометриоз и его глобальное влияние на организм женщины / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева // Проблемы репродукции. – 2022. – № 1. – С. 54-64.
8. Айламазян, Э.К. Классификация эндометриоза / Э.К. Айламазян, М.И. Ярмолинская, А.С. Молотков и др. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – № 2. – С. 77–92.
9. Артымук, Н.В. Эндометриоз-ассоциированное бесплодие. Клинико-анамнестические особенности / Н.В. Артымук, Л.Н. Данилова, О.А. Тачкова // Доктор.Ру. – 2022. – № 1. – С. 34-38.

10. Баранов, В.С. Эндометриоз и миома матки с позиции системной генетики / В.С. Баранов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – № 5. - С. 5-7.
11. Безруков, А.Г. Причины бесплодия, ассоциированного с наружным генитальным эндометриозом и синдромом поликистозных яичников / А.Г. Безруков, В.В. Понамарев, Г.А. Пенжоян и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2018. – № 2. – С. 29-34.
12. Боярский, К.Ю. Факторы, определяющие овариальный резерв женщины / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдуков, А.С. Чинчаладзе // Журнал акушерства и женских болезней. - 2009. – № 2. - С. 65-71.
13. Бугеренко, К.А. Причины снижения овариального резерва при эндометриозных кистах яичников / К.А.Бугеренко, К.В.Ларин, Л.Н.Щербакова и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.- 2018.- № 4.- С. 25-30.
14. Волкова, С.В. Причины бесплодия при эндометриозе: версии и контраверсии XXI века / С.В. Волкова, М.З. Абитова, Л.М. Михалева // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2020. – № 3. – С. 110-114.
15. Волкова, С.В. Эндометриоз: загадка природы или пример несостоятельности науки? / С.В. Волкова, М.Б. Хамошина, М.Р. Оразов и др. // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2021. – № 3 (приложение). – С. 24-29.
16. Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация. Клинические рекомендации (протокол лечения). – Москва, 2019.- 105 с.
17. Габидуллина, Р.И. Эндометриоз: влияние на фертильность и исходы беременности / Р.И. Габидуллина, Е.А. Кошельникова, Т.Н. Шигабутдинова и др. // Гинекология.– 2021. – № 1. – С. 12-17.
18. Гаспаров, А.С. Парапортальная локализация эндометриозной кисты яичника и ее влияние на овариальный резерв и интенсивность хронических

- тазовых болей / А.С. Гаспаров, М.Ф. Дорфман, Е.Д. Дубинская // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2019. - № 2. - С. 27-33.
19. Герасимов, А.М. Частота встречаемости и структура наружного генитального эндометриоза у госпитализированных больных / А.М. Герасимов, А.И. Малышкина, М.В. Кулигина и др. // Гинекология. – 2021. – № 2. – С. 184-189.
20. Громова, Т.А. Возможность неопластической трансформации эндометриоза яичников / Т.А. Громова, Н.А. Шешукова, О.В. Большакова и др. //Акушерство и гинекология.- 2018.- № 3.- С. 96-101.
21. Давыдов, А.И. Абляция, эксцизия, склерозирование: что лучше при эндометриомах яичников малых размеров? / А.И. Давыдов, М.Б. Таирова, М.Н. Шахламова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2019. - № 4. - С. 138-140.
22. Дубинская, Е.Д. Овариальный резерв и эндометриоидные кисты яичников: клинические и ультразвуковые аспекты / Е.Д. Дубинская, А.С. Гаспаров, А.А. Дутов и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2017. - № 4. - С. 27-34.
23. Дубинская, Е.Д. Современные возможности негормональной активации функции яичников при низком овариальном резерве / Е.Д. Дубинская, Дубинская, А.С. Гаспаров, Н.М. Крылова //Акушерство и гинекология.- 2022.- № 2.- С. 37- 44.
24. Ершова, И.Ю. Сопутствующие эстрогензависимые заболевания и состояние овариального резерва у включаемых в программы экстракорпорального оплодотворения пациенток с тяжелым перитонеальным эндометриозом / И.Ю. Ершова, К.В. Краснопольская, М.Р. Оразов и др. // Гинекология. – 2021.– № 5. – С. 386-391.
25. Ершова, И.Ю. Состояние овариального резерва у пациенток с бесплодием после операций по поводу двусторонних эндометриоидных кист яичников / И.Ю. Ершова, К.В. Краснопольская, А.А. Попов и др. // Проблемы репродукции. – 2021. – № 4. – С. 56-63.

26. Женское бесплодие. Клинические рекомендации.- Москва, 2021.- 81 с.
27. Жордания, К. И. Рак яичников: морфология, эпидемиология и гистогенез / К.И. Жордания, Е.В. Калиничева, А.А. Моисеев // Онкогинекология. - 2017. - № 3. - С. 26-32.
28. Ибрагимова, Л.К. Особенности метаболомного профиля фолликулярной жидкости и сред культивирования эмбрионов пациенток с наружным генитальным эндометриозом / Л.К. Ибрагимова, В.Ю. Смольникова, Ч.М. Эльдаров //Акушерство и гинекология.- 2021.- № 11.- С. 114-124.
29. Иванов, И.И. Современный подход к лечению эндометриоза у пациенток, планирующих беременность / И.И. Иванов, Е.Н. Прочан, Е.С. Тарасова и др. // Таврический медико-биологический вестник. – 2017.- № 2.- С. 179-184.
30. Корчагина, А.А. Роль рецепторов VEGFR в неопластическом ангиогенезе и перспективы терапии опухолей мозга / А.А. Корчагина, С.А. Шеин, О.И. Гурина и др. // Вестник РАМН. – 2013. - № 11. – С. 104-114.
31. Красильникова, А.К. Калькулятор для прогнозирования спонтанного наступления беременности в послеоперационном периоде у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием : свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ 2021680763 / А.К. Красильникова, А.И. Малышкина, С.Б. Назаров и др. (Рос.Фед.).- № 2021680098 ; заявл. 07.12.21 ; опубл. 14.12.21.
32. Краснопольская, К.В. Алгоритм преодоления бесплодия при эндометриоидных кистах яичников: взгляд репродуктолога и хирурга / К.В. Краснопольская, А.А. Попов, А.А. Федоров и др. // Акушерство и гинекология.- 2020.- № 11.- С. 78-84.
33. Кузьмина, Н.С. Дифференцированный подход к послеоперационной гормонотерапии больных с эндометриозом / Н.С. Кузьмина, В.Ф. Беженарь, А.С. Калугина // РМЖ. Мать и дитя. – 2018. – № 2. – С. 65-69.
34. Кузнецова, Д.Е. Лечение хронической тазовой боли у пациенток с тяжелыми формами наружного генитального эндометриоза / Д.Е. Кузнецова, Т.А.Макаренко, С.В. Прокопенко // Фарматека.- 2019. - № 13.- С. 53-57.

35. Курило, Л.Ф. Количественный анализ состава фолликулов яичника при эндометриозе / Л.Ф. Курило, Л.М. Михалева, Л.В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2006. - № 3. – С. 53-56.
36. Лаврухина, М.А. Определение тактики лечения бесплодия у пациенток с эндометриоидными кистами яичников / М.А. Лаврухина // Акушерство и гинекология. - 2022. - № 5. - С. 23-29.
37. Малышкина, А.И. Оценка эффективности применения вспомогательных репродуктивных технологий на территориальном уровне / А.И. Малышкина, О.Н. Песикин, М.В. Кулигина // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. -2019.- № 4.- С. 394-398.
38. Марченко, Л.А. Клинико-лабораторная оценка овариального резерва с позиции репродуктолога / Л.А. Марченко, Р.И. Машаева // Акушерство и гинекология. - 2018. - № 8. - С. 22-25.
39. Масс, Е.Е. Новые возможности клинической диагностики эндометриоза и их роль в преодолении бесплодия в программах вспомогательных репродуктивных технологий / Е.Е. Масс, И.Е. Фадеев, Т.Н. Полетова и др. // Проблемы репродукции. – 2022. –№ 1. – С. 123-128.
40. Озерская, И. А. Эхография в гинекологии / И.А. Озерская. - Москва: Видар, 2020. - 704 с.
41. Оразов, М.Р. Бесплодие, ассоциированное с эндометриозом: от легенды к суровой реальности / М.Р. Оразов, В.Е. Радзинский, М.Б. Хамошина и др. // Трудный пациент. – 2019. -№ 1. – С. 6-12.
42. Оразов, М.Р. Молекулярно-генетические особенности состояния эндометрия при эндометриоз-ассоциированном бесплодии / М.Р. Оразов, М.Б. Хамошина, Л.М., Михалева и др. // Трудный пациент. – 2020. – № 1-2. – С. 23-32.
43. Пономаренко, И.В. Молекулярные механизмы и факторы риска развития эндометриоза / И.В. Пономаренко, А.В. Полоников, М.И. Чурносков и др.// Акушерство и гинекология. - 2019.-№ 3.- С. 26-31.

44. Попов, А.А. Репродуктивные исходы хирургического лечения колоректального инфильтративного эндометриоза: обзор литературы / А.А. Попов, К.В. Пучков, А.А. Федоров и др. // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2020. – № 5. - С. 38- 44.
45. Радзинский, В.Е. Нарушения экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в период окна имплантации в эутопическом эндометрии женщин с бесплодием, ассоциированным с наружным генитальным эндометриозом / В.Е. Радзинский, М.Р. Оразов, Л.М. Михалева и др. // Доктор. Ру. – 2021. - № 6. – С. 53–56.
46. Русина, Е.И. Глубокий инфильтративный эндометриоз. Спорные вопросы: за и против / Е.И. Русина, М.И. Ярмолинская, В.О. Пьянкова // Гинекология. - 2020. - № 5. – С. 50-56.
47. Сафронова, А.С. Репродуктивный потенциал пациенток с различными формами эндометриоза (обзор литературы) / А.С. Сафронова, Н.А. Буралкина, А.Г. Бурдули и др. // Проблемы репродукции. – 2021. – № 1.– С. 24-32.
48. Соколова, Ю.В. Молекулярно-биологические основы внутрияичникового фолликулогенеза, созревания и рекрутинга фолликулов / Ю.В. Соколова, Я.О. Мартиросян, Т.А. Назаренко //Акушерство и гинекология.- 2022.- № 1.- С. 22-30.
49. Тихомиров, А.Л. Эндометриоз: качество жизни, прогноз и профилактика / А.Л. Тихомиров // Акушерство и гинекология. Новости.Мнения.Обучение. - 2020. - № 3. - С.132-136.
50. Фетисова, И.Н. Результаты преимплантационного генетического тестирования эмбрионов у пациенток позднего репродуктивного возраста / И.Н. Фетисова, А.И. Малышкина, Е.Л. Бойко и др. // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2019. – № 2. – С.36-38.
51. Филиппова, Е.С. Современный взгляд на овариальный резерв у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников (обзор литературы) / Е.С. Филиппова, И.Ф. Козаченко, А.Г. Быков и др. // Проблемы репродукции. – 2017. – № 2. – С. 72-80.

52. Хамошина, М.Б. Бесплодие, ассоциированное с эндометриозом яичников: современный взгляд на проблему / М.Б. Хамошина, М.Р. Оразов, М.З. Абитова и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2021. – № 1.– С. 98-104.
53. Чайка, В.К. Влияние наружного генитального эндометриоза на фертильность. Особенности прегравидарной подготовки (обзор литературы) / В.К. Чайка, А.А. Рыков // Медико-социальные проблемы семьи. – 2021. – № 3.– С. 112-123.
54. Чернуха, Г.Е. Гены, вовлеченные в развитие преждевременной недостаточности яичников / Г.Е. Чернуха, Г.И. Табеева, С.Д. Рштуни и др. // Акушерство и гинекология.- 2021.- № 11.- С. 71-80.
55. Чернуха, Г.Е. Поиск оптимальных решений и пересмотр тактики ведения пациенток с эндометриозом / Г.Е.Чернуха, Л.А. Марченко, Д.В. Гусев // Акушерство и гинекология. -2020.- № 8.- С.12-20.
56. Чернуха, Г.Е. Эндометриоз яичников и проблема сохранения фертильности / Г.Е. Чернуха, М.Р. Думановская, Л.М. Ильина // Гинекология. -2021.- № 2.- С. 110-116.
57. Чупрынин, В.Д. Отдаленные результаты хирургического лечения глубокого инфильтративного эндометриоза / В.Д. Чупрынин, М.В. Мельников, Е.Г. Хилькевич и др. // Акушерство и гинекология. – 2015.- № 8. – С.78-82.
58. Шмидт, А.А. Эпидемиология бесплодия в России и за рубежом / А.А. Шмидт, С.А. Замятин, И.С. Гончар и др. // Клиническая патофизиология. – 2019. –№ 1. – С. 9-12.
59. Эндометриоз. Клинические рекомендации. – Москва, 2020.- 32 с.
60. Abdalla Ribeiro, H.S. Anti-apoptotic activity in deep pelvic endometriosis / H.S. Abdalla Ribeiro, M.A. Galvão, T. Aoki et al. // Histol Histopathol. – 2014. – Vol. 29, № 9. – P. 1129-1133.
61. Adamson, G.D. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system / G.D. Adamson, D.J. Pasta // Fertil Steril. – 2010. - Vol. 94, № 5. – P. 1609-1615.

62. Adashek, J.J. The paradox of cancer genes in non-malignant conditions: implications for precision medicine / J.J. Adashek, S. Kato, S.M. Lippman et al. // *Genome Med.* – 2020. – Vol.12, № 1. – P. 16.
63. Adewuyi, E.O. Shared molecular genetic mechanisms underlie endometriosis and migraine comorbidity / E.O. Adewuyi, Y.Sapkota // *Genes (Basel).*- 2020.- Vol.11, № 3.- P. 268.
64. Alowiri, N.H. PIK3CA and pten genes expressions in breast cancer / N.H. Alowiri, S.M. Hanafy, R.A. Haleem et al. // *Asian Pac J. Cancer Prev.* – 2019. – Vol. 20, № 9. – P. 841-846.
65. Alqahtani, A. PIK3CA gene mutations in solid malignancies: association with clinicopathological parameters and prognosis / A. Alqahtani, H.S.K. Ayesh, H. Halawani // *Cancers (Basel).* – 2019. – Vol. 12, № 1. – P. 93.
66. American fertility society. Revised american fertility society classification of endometriosis // *Fertil Steril.* -1985.- Vol.43.- P.351–352.
67. Anglesio, M.S. Cancer-associated mutations in endometriosis without cancer / M.S. Anglesio, N. Papadopoulos, A. Ayhan et al. // *N Engl J. Med.* – 2017. – Vol. 376, № 19. – P.1835-1848.
68. Asgari, Z. Comparing ovarian reserve after laparoscopic excision of endometriotic cysts and hemostasis achieved either by bipolar coagulation or suturing: a randomized clinical trial / Z. Asgari, S. Rouholamin, R. Hosseini et al. // *Arch Gynecol Obstet.* – 2016. - Vol. 293, № 5. – P. 1015-1022.
69. Ashrafi, M. The impact of the localisation of endometriosis lesions on ovarian reserve and assisted reproduction techniques outcomes / M. Ashrafi, A. Arabipoor, M. Hemat et al. // *J Obstet Gynaecol.* – 2019. – Vol. 39, № 1. – P. 91-97.
70. Aslan, K. Which is more predictive ovarian sensitivity marker if there is discordance between serum anti-Müllerian hormone levels and antral follicle count? A retrospective analysis / K. Aslan, I. Kasapoglu, C. Cakir et al. // *J Obstet Gynaecol.* – 2022. - № 7. – P. 1-6.

71. Bafort, C. Laparoscopic surgery for endometriosis / C. Bafort, Y. Beebeejaun, C. Tomassetti et al. // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2020. – Vol.10, № 10. – P. 11 - 31.
72. Barnett, R. Endometriosis and Fertility Preservation // R. Barnett, N. Banks, A.H. Decherney // *Clin Obstet Gynecol.* – 2017. – Vol. 60, № 3. – P. 517-523.
73. Barra, F. Inhibition of PI3K/AKT/mTOR pathway for the treatment of endometriosis // F. Barra, L. Ferro Desideri, S. Ferrero // *Br J Pharmacol.* – 2018. – Vol. 175, № 17. – P. 36-126.
74. Barreta, A. Immunohistochemistry expression of targeted therapies biomarkers in ovarian clear cell and endometrioid carcinomas (type I) and endometriosis / A. Barreta, L.O. Sarian, A.C. Ferracini et al. // *Hum Pathol.* – 2019. – № 85. – P. 72-81.
75. Bellusci, G. Kinase-independent inhibition of cyclophosphamide-induced pathways protects the ovarian reserve and prolongs fertility / G. Bellusci, L. Mattiello, V. Iannizzotto et al. // *Cell Death Dis.* – 2019. – Vol.10, № 10. – P.726.
76. Bendifallah, S. Colorectal endometriosis-associated infertility: should surgery precede ART? / S. Bendifallah, H. Roman, E. Mathieu d'Argent et al.// *Fertil Steril.* – 2017. - № 108. – P.525-531.
77. Candiani, M. Assessment ovarian reserve after cystectomy versus one-step laser vaporization in the treatment: a small randomized clinical trial / M. Candiani, J. Ottolina, E. Posadzka et al. // *Reprod.* – 2018. – Vol. 33, № 12. – P. 2205-2211.
78. Cardoso, J.V. Combined effect of vascular endothelial growth factor and its receptor polymorphisms in endometriosis: a case-control study / J.V. Cardoso, M.S. Abrão, R. Vianna-Jorge et al. // *Eur J. Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2017. - № 209. – P.25-33.
79. Cedars, M.I. Evaluation of female fertility - amh and ovarian reserve testing / M.I. Cedars // *J. Clin Endocrinol Metab.* – 2022. - № 1. – P.1-39.
80. Chen, I. Pre- and postsurgical medical therapy for endometriosis surgery/ I. Chen, V.B.Veth, A.J. Choudhr et al. // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2020. - № 11. - P. 36-78.

81. Chen, L. The mechanism exploration of follicular fluids on granulosa cell apoptosis in endometriosis-associated infertility / L. Chen, Z. Ni, Z. Cai et al. // *Biomed Res Int.* – 2021.- Vol.20, № 21.- P.646-686.
82. Choi, C. Usefulness of hemostatic sealants for minimizing ovarian damage during laparoscopic cystectomy for endometriosis / C. Choi, W.Y. Kim, D.H. Lee et al. // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2018. – Vol. 44, № 3. – P. 532-539.
83. Clarke, G.M. Basic statistical analysis in genetic case-control studies / G.M. Clarke, C.A. Anderson, F.H. Pettersson et al. // *Nat Protoc.* – 2011. – Vol. 6, № 2. – P. 121-133.
84. Cobo, A. Oocyte vitrification for fertility preservation in women with endometriosis: an observational study / A. Cobo, J. Giles, S. Paoletti et al. // *Fertil Steril.* – 2020. – Vol. 113, № 4. – P. 836-844.
85. Coccia, M.E. Bilateral Endometrioma Excision: Surgery-Related Damage to Ovarian Reserve / M.E. Coccia, F. Rizzello, T. Capezzuoli et al. // *Reprod Sci.* – 2019. – Vol. 26, № 4. – P. 543-550.
86. Cook, C.L. Serum müllerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles / C.L. Cook, Y. Siow, S. Taylor et al. // *Fertil Steril.* – 2000. - Vol. 73, № 4. – P. 859-861.
87. Courbiere, B. Indications de vitrification ovocytaire dans les pathologies gynécologiques bénignes: conseils de bonne pratique du CNGOF après étude de consensus par méthode Delphi / B. Courbiere, E. Le Roux, E. Mathieu d'Argent et al. // *Gynecol Obstet Fertil Senol.* - 2022. – Vol. 50, № 3. – P. 211-219.
88. Crestani, A. Laparoscopic sclerotherapy for an endometrioma in 10 steps / A. Crestani, B. Merlot, T. Dennis et al. // *Fertil Steril.* - 2022. – Vol.117, № 5. – P. 1102-1103.
89. Cybulska, P. Molecular profiling and molecular classification of endometrioid ovarian carcinomas / P. Cybulska, A.D.C. Paula, J. Tseng et al. // *Gynecol Oncol.* – 2019. – Vol. 154, № 3. – P. 516-523.
90. Delbandi, A.A. Evaluation of apoptosis and angiogenesis in ectopic and eutopic stromal cells of patients with endometriosis compared to non-endometriotic controls /

- A.A. Delbandi, M. Mahmoudi, A. Shervin et al.// BMC Womens Health. – 2020. – Vol.20, № 1. – P.3.
91. Di Nisio, V. Increased levels of proapoptotic markers in normal ovarian cortex surrounding small endometriotic cysts / V. Di Nisio, G. Rossi, G. Di Luigi et al. // *Reprod Biol.* - 2019. – Vol.19, № 3. – P. 225-229.
92. Diakite, B. p.Arg72Pro polymorphism of P53 and breast cancer risk: a meta-analysis of case-control studies / B. Diakite, Y. Kassogue, G. Dolo et al. // *BMC Med Genet.* – 2020. – Vol. 21, № 1. -P. 206.
93. Donnez, J. Ovarian endometriosis and fertility preservation: a challenge in 2018 / J. Donnez, J. García-Solares, M.M. Dolmans et al. // *Minerva Ginecol.* – 2018. – Vol.70, № 4. – P. 408-414.
94. Duan, R. Expression of nm23-H1, p53, and integrin $\beta 1$ in endometriosis and their clinical significance / R. Duan, Y. Wang, A. Lin et al.// *Int J Clin Exp Pathol.* – 2020. – Vol.13, № 5. – P.1024-1029.
95. ESHRE Endometriosis Guideline Group. ESHRE guideline: endometriosis // *Hum Reprod Open.* – 2022. – Vol. 26, № 2. – P. 1-9.
96. Fabregues, F. Pregnancy after drug-free in vitro activation of follicles and fresh tissue autotransplantation in primary ovarian insufficiency patient: a case report and literature review / F. Fabregues, J. Ferreri, J.M. Calafell et al. // *J. Ovarian Res.*- 2018.- Vol.11, № 1.- P. 76.
97. Fan, H. PIK3CA mutations and their response to neoadjuvant treatment in early breast cancer: A systematic review and meta-analysis / H. Fan, C. Li, Q. Xiang et al. // *Thorac Cancer.*- 2018.- Vol.9, № 5.- P.571-579.
98. Ferraretti, A.P. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria / A.P. Ferraretti, A. La Marca, B.C. Fauser et al. // *Hum Reprod.* – 2011. – Vol.26, № 7. – P.1616-1624.
99. Garavaglia, E. Fertility preservation in endometriosis patients: anti-müllerian hormone is a reliable marker of the ovarian follicle density / E. Garavaglia, C. Sala, G. Taccagni et al. // *Front Surg.* -2017.- Vol. 25, № 4.- P. 40.

100. Georgievska, J. Effect of two laparoscopic techniques for treatment of ovarian endometrioma on ovarian reserve / J. Georgievska, S. Sapunov, S. Cekovska et al. // *Med Arch.* -2015.- Vol.69, № 2.- P. 88-90.
101. Gordts, S. Pathogenesis of deep endometriosis / S. Gordts, P. Koninckx, I. Brosens et al. // *Fertil Steril.* – 2017. - Vol.108, № 6. – P. 872–885.
102. Grosbois, J. Dynamics of pi3k and hippo signaling pathways during in vitro human follicle activation / J. Grosbois, I. Demeestere // *Hum. Reprod.*- 2018.- Vol.33.- P. 1705–1714.
103. Guinard, E. Management of infertile women with pelvic endometriosis: a literature review / E. Guinard, P. Collinet, C. Lefebvre et al. // *Minerva Ginecol.* - 2017.- Vol.69, № 2.- P. 178-189.
104. Hroman, M. Strategies and surgical management of endometriosis: cngof-has endometriosis guidelines / M. Hroman, J. Ballester, J. Loriau et al. // *Gynecol Obstet Fertil Senol.*- 2018.- Vol.46, № 3.- P. 326-330.
105. Harzif, A.K. Ovarian cortex freezing as a method of fertility preservation in endometriosis: A case report / A.K. Harzif, G. Pratama, M. Maidarti et al. // *Ann Med Surg (Lond).* – 2022. - № 74. – P. 103-222.
106. Hattori, K. Lymphangiogenesis induced by vascular endothelial growth factor receptor 1 signaling contributes to the progression of endometriosis in mice / K. Hattori, Y. Ito, M. Honda et al. // *J Pharmacol Sci.* – 2020. - Vol.143, № 4. – P. 255-263.
107. Heng, D. Mtor inhibition by INK128 extends functions of the ovary reconstituted from germline stem cells in aging and premature aging mice / D. Heng, X. Sheng, C. Tian et al.// *Aging Cell.* – 2021. -Vol.20, № 2. – P.13-304.
108. Hsueh, A.J. Fertility: the role of mTOR signaling and KIT ligand / A.J. Hsueh // *Curr Biol.*- 2014 .- Vol.24, № 21.- P.1040-1042.
109. Huang, Y. Elevated expressions of SHP2 and GAB2 correlated with VEGF in eutopic and ectopic endometrium of women with ovarian endometriosis / Y. Huang, T. Zhang, L. Chen et al.// *Gynecol Endocrinol.* – 2020. – Vol. 36, № 9. – P. 813-818.

110. Iliodromiti, S. Technical and performance characteristics of anti-Müllerian hormone and antral follicle count as biomarkers of ovarian response / S. Iliodromiti, R.A. Anderson, S.M. Nelson // *Hum Reprod Update.* – 2015. – Vol. 21, № 6. – P. 698-710.
111. Isil, K. Endometrioma-related reduction in ovarian reserve (error): a prospective longitudinal study / K. Isil, A. Baris, U. Ozlem et al. // *Fertil Steril.* – 2018. – Vol.110, № 1. – P. 122-127.
112. Istrate-Ofițeru, A.M. Clinical, morphological and immunohistochemical survey in different types of endometriosis / A.M. Istrate-Ofițeru, D. Pirici, M. Niculescu et al. // *Rom J Morphol Embryol.* – 2018. – Vol.59, № 4. – P. 1133-1153.
113. Iversen, M.L. Does surgery for deep infiltrating bowel endometriosis improve fertility? A systematic review / M.L. Iversen, M. Seyer-Hansen, A. Forman // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2017. – Vol.96, № 6. – P. 688-693.
114. Garcia-Velasco, J.A. Management of endometriomas in women requiring ivf: to touch or not to touch / J.A. Garcia-Velasco, E. Somigliana // *Hum Reprod.* – 2009. – Vol.24, № 3. – P. 496-501.
115. JaimePrat, F.R.C. Ovarian carcinomas: at least five different diseases with distinct histological features and molecular genetics / E.R.C. JaimePrat, P.E. D'Angelo, P.H.D. Espinosa // *Human Pathology.* – 2018. – Vol.80. – P. 11-27.
116. Jiang, W. The PIK3CA E542K and E545K mutations promote glycolysis and proliferation via induction of the β -catenin/SIRT3 signaling pathway in cervical cancer / W. Jiang, T. He, S. Liu et al. // *J Hematol Oncol.* – 2018. – Vol.11, №1. – P.139.
117. Kacan, T. Everolimus as an mTOR inhibitor suppresses endometriotic implants: an experimental rat study / T. Kacan, C. Yildiz, S. Baloglu et al. // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 2017. – Vol. 77, № 1. – P. 66-72.
118. Kajiyama, H. Endometriosis and cancer / H. Kajiyama, S. Suzuki, M. Yoshihara et al. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2019. – Vol.133. – P. 186-192.

119. Kalkan, U. T-Cadherin, E-Cadherin, PR- α , and ER- α Levels in deep infiltrating endometriosis / U. Kalkan, I. Biyik, S. Simsek et al. // *Int J Gynecol Pathol.*- 2022.- Vol.11.- P.34-47.
120. Kawamura, K. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment / K. Kawamura, Y. Cheng, N. Suzuki et al. // *Proc Natl Acad Sci USA.*- 2013.- Vol.110, № 43.- P.17474-17479.
121. Khan, M. Evaluation of the p53 Arg72Pro polymorphism and its association with cancer risk: A HuGE review and meta-analysis / M. Khan, A. Khalil, H. Rashid et al. // *Genetics Research.* – 2015. – Vol. 97, № 7. – P. 1-11.
122. Kim, S.Y. Transient inhibition of p53 homologs protects ovarian function from two distinct apoptotic pathways triggered by anticancer therapies / S.Y. Kim, D.M. Nair, M. Romero et al. // *Cell Death Differ.* – 2019. – Vol.26, № 3. – P. 502-515.
123. Kim, S.Y. Cell autonomous phosphoinositide 3-kinase activation in oocytes disrupts normal ovarian function through promoting survival and overgrowth of ovarian follicles / S.Y. Kim, K. Ebbert, - Cordeiro : *M.H Endocrinology*, 2015.-P. 1464 -1476.
124. Kitajima, M. Association between ovarian endometrioma and ovarian reserve / M. Kitajima, K.N. Khan, A. Harada // *Front Biosci (Elite Ed).* - 2018.- Vol.10.- P. 92-102.
125. Kitajima, M. Enhanced follicular recruitment and atresia in cortex derived from ovaries with endometriomas / M. Kitajima, M.M. Dolmans, O. Donnez et al. // *Fertil. Steril.*- 2014.-Vol.101.- P. 1031–1037.
126. Koninckx, P.R. Peritoneal fluid progesterone and progesterone resistance in superficial endometriosis lesions / P.R. Koninckx, A. Ussia, L. Adamyan et al. // *Hum Reprod.*- 2022.- Vol.37, № 2.- P. 203-211.
127. Lac, V. Iatrogenic endometriosis harbors somatic cancer-driver mutations / V. Lac, L. Verhoef, R. Aguirre-Hernandez et al. // *Hum Reprod.*-2019.- Vol.34, № 1.- P. 69-78.

128. Laganà, A.S. The Pathogenesis of endometriosis: molecular and cell biology insights / A.S. Laganà, S. Garzon, M. Götte et al. // *Int J Mol Sci.* -2019.-Vol.20, № 22.- P.56-115.
129. Lal, N. Vascular endothelial growth factor b and its signaling / N. Lal, K. Puri, B. Rodrigues et al. // *Front Cardiovasc Med.* – 2018. - № 5. – P.39.
130. Lee, Y.J. Integrating a next generation sequencing panel into clinical practice in ovarian cancer / Y.J. Lee, D. Kim, H.S. Kim et al. // *Yonsei Med J.*- 2019.-Vol.60, № 10.- P. 914-923.
131. Lenz, J. Comparative immunohistochemical study of deep infiltrating endometriosis, lymph node endometriosis and atypical ovarian endometriosis including description of a perineural invasion / J. Lenz, R. Chvatal, L. Fiala et al. // *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.*- 2021.- Vol.165, № 1.- P. 69-79.
132. Li, C. The expression and significance of leukemia inhibitory factor, interleukin-6 and vascular endothelial growth factor in Chinese patients with endometriosis / C. Li, H.L. Zhao, Y.J. Li et al. // *Arch Gynecol Obstet.* – 2021. – Vol.304, № 1. – P.163-170.
133. Li, J. TP53 Arg72Pro polymorphism (rs1042522) and risk of endometriosis among Asian and Caucasian populations / J. Li, Y. Chen, Z. Mo et al. // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2015. - № 189. – P. 73-78.
134. Ling, M. VEGFB promotes myoblasts proliferation and differentiation through VEGFR1-pi3k/akt signaling pathway / M. Ling, L. Quan, X. Lai et al. // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 24. – P.133-152.
135. Liu, P. Dysregulated cytokine profile associated with biochemical premature ovarian insufficiency / P. Liu, X. Zhang, J. Hu et al. // *Am J Reprod Immunol.* – 2020. – Vol.84, № 4. – P.132-192.
136. Lv, Y. Single-oocyte gene expression suggests that curcumin can protect the ovarian reserve by regulating the pten-akt-foxo3a pathway / Y. Lv, R.C. Cao, H.B. Liu et al. // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol.22, № 12. – P.65-70.

137. Madanes, D. PI3K/AKT pathway is altered in the endometriosis patient's endometrium and presents differences according to severity stage / D. Madanes, M.A. Bilotas, J.I. Bastón et al. // *Gynecol Endocrinol.*- 2020.- Vol.36, № 5.- P.436-440.
138. Maidarti, M. Crosstalk between PTEN/PI3K/Akt signalling and dna damage in the oocyte: implications for primordial follicle activation, oocyte quality and ageing / M. Maidarti, R.A. Anderson, E.E. Telfer // *Cells.* – 2020.- Vol.9, № 1.- P.200.
139. Maignien, C. Deep infiltrating endometriosis: a previous history of surgery for endometriosis may negatively affect assisted reproductive technology outcomes / C. Maignien, P. Santulli, M. Bourdon et al. // *Reprod Sci.*- 2020.- Vol. 27, № 2.- P.545-554.
140. Mathieu d'Argent, E. Deeply infiltrating endometriosis and infertility: CNGOF-HAS endometriosis guidelines / E. Mathieu d'Argent, J. Cohen, C. Chauffour et al.// *Gynecol Obstet Fertil Senol.*- 2018.- Vol.46, № 3.- P.357-367.
141. Méar, L. Polymorphisms and endometriosis: a systematic review and meta-analyses / L. Méar, M. Herr, A. Fauconnier et al. // *Hum Reprod Update.* – 2020. – Vol.26, № 1. – P. 73-102.
142. Mori, T. Local estrogen formation and its regulation in endometriosis / T. Mori, F. Ito, A. Koshiba et al. // *Reprod Med Biol.* 2019.- Vol.18, № 4.- P. 305-311.
143. Muzii, L. Antimüllerian hormone is reduced in the presence of ovarian endometriomas: a systematic review and meta-analysis / L. Muzii, C. Di Tucci, M. Di Felicianantonio et al. // *Fertil Steril.* – 2018. – Vol.110, № 5 – P. 932-940.
144. Myers, A.P. Phase II, 2-stage, 2-arm, PIK3CA mutation stratified trial of MK-2206 in recurrent endometrial cancer / A.P.Myers, P.A. Konstantinopoulos, W.T. Barry et al. // *Int J Cancer.*- 2020.- Vol.147, № 2.- P.413-422.
145. Nappi, L. Anti-Mullerian hormone trend evaluation after laparoscopic surgery of monolateral endometrioma using a new dual wavelengths laser system (DWLS) for hemostasis / L. Nappi, S. Angioni, F. Sorrentino et al. // *Gynecol Endocrinol.*- 2016.- Vol.32, № 1.- P. 34-37.

146. National Guideline Alliance (UK). Endometriosis: diagnosis and management.- London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE), 2017.- 345 p.
147. Oral, E. Endometriosis and ovarian reserve / E. Oral, B. Demir, U. Inceboz et al. // Womens Health (Lond). -2015.- Vol.11, № 5.- P.671-675.
148. Parazzini, F. Epidemiology of endometriosis and its comorbidities / F. Parazzini //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2017. – Vol.209. – P. 3-7.
149. Paulo, H.M.Bianchi. Extensive excision of deep infiltrative endometriosis before in vitro fertilization significantly improves pregnancy rates / H.M.Bianchi Paulo, M.A.Pereira Ricardo, Zanatta Alysson et al. //J Minim Invasive Gynecol.- 2009.- Vol.16, № 2.- P.174-180.
150. Pedachenko, N. Serum anti-Mullerian hormone, prolactin and estradiol concentrations in infertile women with endometriosis / N. Pedachenko, P. Anagnostis T. Shemelko et al. // Gynecol Endocrinol. – 2021. -Vol, 37, № 2. – P. 162-165.
151. Pejovic, T. Endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer (EAOC) / T. Pejovic, S. Thisted, M. White et al. // Adv Exp Med Biol. – 2020. - № 1242. – P.73-87.
152. Pergialiotis, V. The impact of vascular endothelial growth factor single nucleotide polymorphisms in the development and severity of endometriosis: A systematic review of the literature / V. Pergialiotis, M. Fanaki, I. Bellos et al.// J Gynecol Obstet Hum Reprod. – 2020. - № 22. -P.101-732.
153. Proestling, K. Enhanced epithelial to mesenchymal transition (EMT) and upregulated MYC in ectopic lesions contribute independently to endometriosis / K. Proestling, P. Birner, S. Gamperl et al. //Reprod Biol Endocrinol.- 2015.- Vol.13, № 22.- P. 75.
154. Rashidi, B.H. Association of vascular endothelial growth factor (VEGF) Gene polymorphisms and expression with the risk of endometriosis: a case-control study / B.H. Rashidi, N. Sarhangi, S. Aminimoghaddam et al. // Mol Biol Rep. – 2019. – Vol.46, № 3. – P. 3445-3450.

155. Rehnitz, J. FMR1 and AKT/mTOR signalling pathways: potential functional interactions controlling folliculogenesis in human granulosa cells / J. Rehnitz, D.D. Alcoba, I.S. Brum et al. //Reprod Biomed Online.- 2017.- Vol.35, № 5.- P. 485-493.
156. Rezk, N.A. MiRNA 34-a regulate SIRT-1 and Foxo-1 expression in endometriosis / N.A. Rezk, M.B. Lashin, N.A. Sabbah // Noncoding RNA Res. – 2021. – Vol.6, № 1. – P. 35-41.
157. Romanski, P.A. The effect of endometriosis on the antimüllerian hormone level in the infertile population / P.A. Romanski, P.C. Brady, L.V. Farland et al. // J Assist Reprod Genet. – 2019.- Vol.36, № 6.- P.1179-1184.
158. Saavalainen, L. Deep infiltrating endometriosis affecting the urinary tract-surgical treatment and fertility outcomes in 2004-2013 / L. Saavalainen, O. Heikinheimo, A. Tiitinen et al.//Gynecol Surg.- 2016.- Vol.13, № 4.- P. 435-444.
159. Sahraei, S.S. A comparative study of gene expression in menstrual blood-derived stromal cells between endometriosis and healthy women / S.S. Sahraei, A.F. Davoodi, N. Kalhor et al. // Biomed Res Int. – 2022. - № 11. – P. 705-721.
160. Saito, A. Involvement of mesosalpinx in endometrioma is a possible risk factor for decrease of ovarian reserve after cystectomy: a retrospective cohort study / A. Saito, A. Iwase, T. Nakamura et al.//Reprod Biol Endocrinol.- 2016.- Vol.14, № 1.- P. 72
161. Sarbazi, F. The Clinical outcome of laparoscopic surgery for endometriosis on pain, ovarian reserve, and cancer antigen 125 (ca-125): a cohort study / F. Sarbazi, E. Akbari, A. Karimi et al. // Int J Fertil Steril. 2021. - Vol.15, № 4. – P. 275-279.
162. Sekiguchi, K.VEGF receptor 1-expressing macrophages recruited from bone marrow enhances angiogenesis in endometrial tissues / K. Sekiguchi, Y. Ito, K. Hattori et al. // Sci Rep. – 2019. – Vol. 9, № 1. – P.70-137.
163. Shaltout, M.F. A randomized controlled trial of a new technique for laparoscopic management of ovarian endometriosis preventing recurrence and keeping ovarian reserve / M.F. Shaltout, A. Elsheikhah, A.M. Maged et al. // J Ovarian Res.- 2019.- Vol.12, № 1.- P. 66.

164. Stochino-Loi, E. Does preoperative antimüllerian hormone level influence postoperative pregnancy rate in women undergoing surgery for severe endometriosis? / E. Stochino-Loi, B. Darwish, O. Mircea et al. // *Fertil Steril.*- 2017.- Vol.107, № 3.- P.707-713.
165. Su, Y.F. Targeted sequencing of a specific gene panel detects a high frequency of ARID1A and PIK3CA mutations in ovarian clear cell carcinoma / Y.F. Su, E.M. Tsai, C.C. Chen et al. // *Clin Chim Acta.*- 2019.- Vol.494.- P.1-7.
166. Suda, K. clonal expansion and diversification of cancer-associated mutations in endometriosis and normal endometrium / K. Suda, H. Nakaoka, K. Yoshihara et al. // *Cell Rep.* - 2018 .- Vol.24, №7.- P.1777-1789.
167. Suda, K. Clonal lineage from normal endometrium to ovarian clear cell carcinoma through ovarian endometriosis / K. Suda, L.A. Cruz Diaz, K. Yoshihara et al. // *Cancer Sci.*- 2020 .- Vol.111, № 8.- P.3000–3009.
168. Suda, K. Different mutation profiles between epithelium and stroma in endometriosis and normal endometrium / K. Suda, H. Nakaoka, K. Yoshihara et al. // *Hum Reprod.*- 2019 .- Vol.34, № 10.- P.1899-1905.
169. Suzuki, N. Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with primary ovarian insufficiency / N. Suzuki, N.I. Yoshioka, S.Takae et al.// *Hum Reprod.*- 2015.- Vol.30, № 3.- P.608-615.
170. Takeuchi, A. Endometriosis triggers excessive activation of primordial follicles via PI3K-PTEN-Akt-Foxo3 pathway / A. Takeuchi, K. Koga, E. Satake et al.// *J Clin Endocrinol Metab.*- 2019 .- Vol. 20. – P.2019-2081.
171. Tang, T. Application of serum markers in diagnosis and staging of ovarian endometriosis / T. Tang, H. Lai, X. Huang et al. // *J Obstet Gynaecol Res.* - 2021. – Vol. 47, № 4. – P.1441-1450.
172. Tehrani, F.R. Investigating the clinical utility of the anti-mullerian hormone testing for the prediction of age at menopause and assessment of functional ovarian reserve: a practical approach and recent updates / F.R. Tehrani, F. Firouzi, S. Behboudi-Gandevani // *Aging Dis.* – 2022. – Vol.13, № 2. – P. 458-467.

173. Terren, C. Pharmacological inhibition of the PI3K/PTEN/Akt and mTOR signalling pathways limits follicle activation induced by ovarian cryopreservation and in vitro culture / C. Terren, M. Nisolle, C. Munaut // *J Ovarian Res.* - 2021. -Vol.14, № 1. – P.95.
174. Thombre Kulkarni, M. Association between laparoscopically confirmed endometriosis and risk of early natural menopause / M. Kulkarni Thombre, A. Shafrir, L.V. Farland et al.// *JAMA Netw Open.* 2022. – Vol.5, № 1. - P.214-391.
175. Tomassetti, C. Endometriosis and infertility: Insights into the causal link and management strategies / C. Tomassetti, T. D'Hooghe // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2018. - № 51. – P. 25-33.
176. Vagnini, L.D. Correlation of TP53 (rs1625895), TP73 (rs3765730), MMP9 (rs17576), and MTHFR (rs868014) polymorphisms with low ovarian reserve / L.D. Vagnini, A. Renzi, C.G. Petersen et al. // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*- 2022.- Vol.269.- P.132-137.
177. Vagnini, L.D. The TP73 gene polymorphism (rs4648551, A>G) is associated with diminished ovarian reserve / L.D. Vagnini, A. Renzi, G.R. Oliveira-Pelegrin et al.// *PLoS One.* – 2015. – Vol.10, № 3. -P. 120-148.
178. Varga, J. Predictive factors of endometriosis progression into ovarian cancer / J. Varga, A. Reviczká, H. Háková et al. // *J Ovarian Res.* – 2022. – Vol.15, № 1. – P.5.
179. Vetvicka, V. Endometriosis and gynaecological cancers: molecular insights behind a complex machinery / V. Vetvicka, L. Fiala, S. Garzon ey al.// *Prz Menopauzalny.*- 2021. – Vol.20, № 4. – P. 201-206.
180. Vodolazkaia, A. Vascular endothelial growth factor pathway in endometriosis: genetic variants and plasma biomarkers / A. Vodolazkaia, B.T. Yesilyurt, C.M. Kyama et al. // *Fertil Steril.* - 2016. – Vol.105, № 4. – P.988-996.
181. Wang, D. Combined inhibition of PI3K and PARP is effective in the treatment of ovarian cancer cells with wild-type PIK3CA genes / D. Wang, C. Li, Y. Zhang et al.// *Gynecol Oncol.*- 2016.- Vol.142, № 3.- P.548-556.

182. Wang, D. Effective use of PI3K inhibitor BKM120 and PARP inhibitor Olaparib to treat PIK3CA mutant ovarian cancer / D. Wang, M. Wang, N. Jiang et al. // *Oncotarget*.- 2016.- Vol.7, № 11.- P.13153-13166.
183. Wang, Y. Effect of laparoscopic endometrioma cystectomy on anti-Müllerian hormone (AMH) levels / Y. Wang, X. Ruan, D. Lu // *Gynecol Endocrinol*.- 2019.- Vol.35, № 6.- P.494-497.
184. Wilbur, M.A. Cancer implications for patients with endometriosis / M.A. Wilbur, I.M. Shih, J.H. Segars // *Semin Reprod Med*.- 2017.- Vol.35, № 1.- P.110-116.
185. Wu, W.B. VEGF concentration in a preovulatory leading follicle relates to ovarian reserve and oocyte maturation during ovarian stimulation with gnRH antagonist protocol in in vitro fertilization cycle / W.B. Wu, H.T. Chen, J.J. Lin et al. // *J Clin Med*. – 2021. – Vol.10, № 21. – P.50-132.
186. Xin, L. The effects of vasopressin injection technique on ovarian reserve in laparoscopic cystectomy of bilateral ovarian endometrioma: a retrospective cohort study / L. Xin, M. Ye, L. Yang et al. // *Am J Transl Res*.- 2022. – Vol.14, № 4. – P. 2343-2349.
187. Yan, Y. Meta-analysis of association between the TP53 Arg72Pro polymorphism and risk of endometriosis based on case-control studies / Y. Yan, R. Wu, S. Li et al.// *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. – 2015. -№ 189. – P. 1-7.
188. Yang, Y.M. Epithelial-to-mesenchymal transition in the development of endometriosis / Y.M. Yang, W.X.Yang // *Oncotarget*.- 2017.- Vol.8, № 25.- P. 41679-41689.
189. Yding Andersen, C. Fertility preservation: freezing of ovarian tissue and clinical opportunities / C. Andersen Yding, L.S. Mamsen, S.G. Kristensen // *Reproduction*. – 2019. -Vol. 158, 5. – P.27-34.
190. Younis, J.S. Impact of unilateral versus bilateral ovarian endometriotic cystectomy on ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis / J.S. Younis, N. Shapso, R. Fleming // *Hum Reprod Update*.- 2019.- Vol.25, № 3.- P.375-391.

191. Zang, Y. Robust genomic control and robust delta centralization tests for case-control association studies / Y. Zang, H. Zhang, Y. Yang et al. //Hum Hered.- 2007.- Vol.63, № 3-4.- P.187-195.
192. Zhai, J. In vitro activation of follicles and fresh tissue auto-transplantation in primary ovarian insufficiency patients / J. Zhai, G. Yao, F. Dong et al.// J Clin Endocrinol Metab.- 2016.- Vol.101, № 11.- P.4405-4412.
193. Zhang, H, Somatic cells initiate primordial follicle activation and govern the development of dormant oocytes in mice / H. Zhang, S. Risal, N. Gorre // Curr Biol. 2014 .- Vol.24, № 21.- P.2501-2508.
194. Zhou, S. The inhibition of WIP1 phosphatase accelerates the depletion of primordial follicles / S. Zhou, Y. Xi, Y. Chen et al. // Reprod Biomed Online. – 2021. – Vol.43, № 2. – P.161-171.
195. Zou, Y. The presence of KRAS, PPP2R1A and ARID1A mutations in 101 Chinese samples with ovarian endometriosis / Y. Zou, J.Y. Zhou, J.B. Guo // Mutat Res.- 2018.- Vol.809.- P.1-5.