

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Балтийский федеральный университет имени  
Иммануила Канта»

На правах рукописи

Куликова Наталья Владимировна

**РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ НЕОАНГИОГЕНЕЗА,  
ГЕЛЬОБРАЗУЮЩЕГО МУЦИНА И ФЕРМЕНТА МЕТАБОЛИЗМА  
АНДРОГЕНОВ В РАЗВИТИИ ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук  
Л.С. Литвинова

Научный консультант:  
доктор медицинских наук, доцент  
Н.В. Шперлинг

Калининград 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	13
1.1. Эндометриоз: определение, эпидемиология, классификация, клиника .....	13
1.1.1. Роль хронического эндометрита в патогенезе эндометриоза.....	19
1.1.2. Характеристика и механизм формирования болевого синдрома при эндометриозе .....	20
1.2. Этиология и патогенез эндометриоза. Теории возникновения эндометриоза .....	21
1.2.1. Ретроградная менструальная модель .....	22
1.2.2. Метапластическая (целомическая) теория .....	23
1.2.3. Дезонтологическая теория .....	24
1.2.4. Гормональная теория.....	24
1.2.5. Иммунологическая теория .....	27
1.2.6. Ангиогенез в патогенезе эндометриоза .....	32
1.2.7. Роль генетических факторов при наружном генитальном эндометриозе.....	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	37
2.1. Материалы исследования .....	37
2.1.1. Клиническая характеристика пациенток .....	40
2.2. Методы исследования.....	44
2.2.1. Гистологическое исследование операционного материала.....	44
2.2.2. Молекулярно-генетические исследования .....	44
2.2.3. Иммуноферментный анализ.....	45
2.2.4. Статистическая обработка результатов .....	46
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	48
3.1. Содержание ангиогенного цитокина VEGF-A в сыворотке крови у пациенток с генитальным эндометриозом .....	48
3.1.1. Уровень фактора VEGF-A в сыворотке крови у пациенток с генитальным эндометриозом и с патологией эндометрия.....	49
3.2. Исследование однонуклеотидных полиморфизмов гена VEGF-A .....	50
3.2.1. Однонуклеотидный полиморфизм C(-460)T (rs833061) гена <i>VEGF-A</i> .....	50
3.2.1.1. Взаимосвязь полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена <i>VEGF-A</i> и риск развития эндометриоза .....	50
3.2.1.2. Взаимосвязь полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена <i>VEGF-A</i> с хроническим эндометритом у пациенток с эндометриозом.....	50

3.2.1.3. Взаимосвязь полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена <i>VEGF-A</i> с содержанием цитокина <i>VEGF-A</i> .....	51
3.2.1.4. Взаимосвязь полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена <i>VEGF-A</i> с клинических симптомов у женщин с эндометриозом.....	52
3.2.1.5. Взаимосвязь полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена <i>VEGF-A</i> с формами эндометриоза.....	54
3.3. Исследование однонуклеотидного полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i> .....	55
3.3.1. Взаимосвязь полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i> с риском развития эндометриоза.....	55
3.3.2. Взаимосвязь полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i> с хроническим эндометритом у пациенток с эндометриозом .....	56
3.3.3. Взаимосвязь полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i> и содержание <i>VEGF-A</i> .....	57
3.3.4. Взаимосвязь полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i> с клиническими симптомами у женщин с эндометриозом.....	58
3.3.5. Взаимосвязь полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i> с формами эндометриоза.....	59
3.4. Исследование однонуклеотидных полиморфизмов гена <i>MUC2</i> .....	61
3.4.1. Однонуклеотидный полиморфизм C(-15161)T (rs10902088) гена <i>MUC2</i> .....	61
3.4.1.1. Взаимосвязь полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена <i>MUC2</i> с риском развития эндометриоза.....	61
3.4.1.2. Взаимосвязь полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена <i>MUC2</i> с хроническим эндометритом у пациенток с эндометриозом.....	62
3.4.1.3. Взаимосвязь полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена <i>MUC2</i> с клиническими симптомами у женщин с эндометриозом .....	62
3.4.1.4. Взаимосвязь полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена <i>MUC2</i> с формами эндометриоза .....	64
3.5. Однонуклеотидный полиморфизм T(-12150)C (rs10794288) гена <i>MUC2</i> .....	65
3.5.1. Взаимосвязь полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена <i>MUC2</i> с риском развития эндометриоза .....	65
3.5.2. Взаимосвязь полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена <i>MUC2</i> с хроническим эндометритом у пациенток с эндометриозом.....	66
3.5.3. Взаимосвязь полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена <i>MUC2</i> с клиническими симптомами у женщин с эндометриозом .....	67
3.5.4. Взаимосвязь полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена <i>MUC2</i> с формами эндометриоза.....	68

3.6. Исследование однонуклеотидных полиморфизмов гена <i>CYP11B2</i> .....	69
3.6.1. Взаимосвязь полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i> с риском развития генитального эндометриоза.....	69
3.6.2. Взаимосвязь полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i> с хроническим эндометритом при генитальном эндометриозе .....	70
3.6.3. Взаимосвязь полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i> с клиническими симптомами у женщин с эндометриозом .....	71
3.6.4. Взаимосвязь полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i> с формами эндометриоза.....	73
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	75
4.1. Анализ ассоциаций полиморфных вариантов С(-460)Т (rs833061), С(+936)Т (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i> , С(-15161)Т (rs10902088) и Т(-12150)С (rs10794288) гена <i>MUC2</i> и С(-344)Т (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i> с риском развития генитального эндометриоза и хронического эндометрита.....	79
4.2. Анализ ассоциаций полиморфных вариантов С(-460)Т (rs833061), С(+936)Т (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i> , С(-15161)Т (rs10902088) и Т(-12150)С (rs10794288) гена <i>MUC2</i> и С(-344)Т (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i> с риском развития клинических симптомов связанных с эндометриозом и форм эндометриоза .....	81
4.3. Выявление взаимосвязи полиморфных вариантов С(-460)Т (rs833061), С(+936)Т (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i> с содержанием ангиогенного фактора <i>VEGF-A</i> в сыворотке крови.....	83
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	89
ВЫВОДЫ .....	91
СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ .....	92
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....	93

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Эндометриоз является сложным, многоцентровым, рецидивирующим, дисгормональным, иммунозависимым и генетически детерминированным заболеванием, для которого характерно эктопическое расположение вне полости матки ткани, схожей морфологически и функционально с эндометрием [5, 8, 25, 42, 98]. Эндометриозом страдают около 176 млн женщин в мире, из которых фертильными остаются не более 60% [17]. Разнообразие клинических проявлений и локализаций эндометриоза снижает процент раннего выявления заболевания и своевременной постановки диагноза. В случае установленного диагноза и проведения комплексного лечения, частота вынашивания беременностей у данной категории пациенток, спонтанно или с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, составляет не более 50-70% [10, 168].

Известно, что эндометриоз негативно влияет на качество жизни пациенток, в том числе, большинство пациенток отмечают склонность к депрессии. Однако, ассоциировать психологический портрет пациенток с риском развития эндометриоза на данный момент не удалось [6, 18, 22, 25, 75, 125, 146]. Эндометриоз встречается среди пациенток различного возраста; наиболее часто обнаруживается у женщин репродуктивного возраста. Описаны случаи эндометриоза у девочек до начала менархе, [21, 121] и у женщин в менопаузе [75, 89].

В настоящее время, наиболее приемлемой теорией возникновения эндометриоза является гипотеза Сэмпсона о ретроградной менструации, которая предполагает, что во время менструации эндометриальные эмболы мигрируют через фаллопиевы трубы и венозную сеть в брюшную полость или другие органы, где они способны прикрепляться, выживать и имплантироваться [126].

Эндометриоз – заболевание, имеющее наследственную предрасположенность, на развитие которого влияют многочисленные факторы, в том числе, генетические и экологические, хотя точная геномная основа эндометриоза не ясна. Общая наследственность эндометриоза оценивается примерно в 50%, но точный механизм развития этой патологии не определен [24]. Предположение о возможности генетической предрасположенности эндометриоза основано на отдельных генеалогических исследованиях [99]. Клинические случаи возникновения эндометриоза у монозиготных близнецов позволили выявить высокую (относительно среднестатистической) экспрессию генов человеческого лейкоцитарного антигена, интерферона гамма (IFN- $\gamma$ ), интегринов и интерлейкина-6 (IL-6) [72]. При проведении крупномасштабного исследования, посвящённого генетическому анализу более 300 случаев наследственного эндометриоза, было выявлено, что при данном заболевании преобладает аутосомно - доминантный тип наследования [78, 81, 97]. Следовательно, можно предположить, что эндометриоз ассоциирован с экспрессией дефектных генов в результате мутаций.

**Степень разработанности темы.** При эндометриозе прогностическое значение имеют полиморфные варианты и мутации генов-маркеров апоптоза, ангиогенеза, пролиферации. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) является основным медиатором ангиогенеза, индуцирующим новообразование, миграцию, дифференцировку и пролиферацию эндотелиальных клеток капилляров и вносящем вклад в патогенез и прогрессирование эндометриоза [73, 124, 167]. Известно, что при гиперэстрогемии VEGF секретируется эпителиальными и стромальными клетками матки [161, 163]. VEGF был выделен в эндометриальных гетеротопиях и перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом [166].

Большая часть эстрогенов синтезируется в theca - клетках яичников, иной механизм синтеза эстрогенов осуществляется посредством

ароматизации андрогенов в надпочечниках и печени [23, 101, 104]. Несмотря на то, что роль андрогенов в патогенезе эндометриоза не изучена, в нормально расположенном и гетеротопном эндометрии определяются рецепторы к андрогенам [109, 159].

Биосинтез всех стероидных гормонов происходит посредством реакций гидроксилирования, специфичность которых определяется белком цитохрома P450. Ген *CYP11B2*, кодирующий выработку ферментов цитохрома P450, локализуется на митохондриальной внутренней мембране, обладает стероидной 18-гидроксилазной активностью для синтеза альдостерона и 18-оксикортизола, а также стероидной 11-бета-гидроксилазной активностью. Мутации в этом гене вызывают дефицит кортикостеронметилоксидазы [92, 134].

В механизме защиты эндометрия, в том числе и эктопичного, участвуют гельобразующие муцины (в частности, MUC 2), с помощью образования вязко-эластичного слоя с высокой молекулярной массой. Одним из таких компонентов слизи является MUC 2; данный гликопротеин синтезируется бокаловидными эндокриноцитами в фазу секреции [87, 133]. Установлено, что нарушение секреции муцинов (MUC 1, MUC 4, MUC 16) является предиктором эндометриоз-ассоциированного бесплодия [92, 141]. Связь полиморфизмов rs10794288 и rs10902088 гена *MUC2* с развитием эндометриоза у женщин, проживающих на территории Тайваня, была доказана в 2012 году [144].

Приведенные выше данные литературы о связи полиморфизмов обозначенных генов с развитием эндометриоза не являются неопровержимыми. Дальнейший анализ значения генетических факторов в этиологии эндометриоза играет ведущую роль в диагностике, определении индивидуального риска и разработке новых терапевтических направлений в лечении данного заболевания. Не исключено, что генетические факторы опосредованно влияют на развитие эндометриоза, посредством врожденных

аномалий развития репродуктивной системы и нарушения иммунного гомеостаза.

Поиск маркеров предрасположенности к генитальному эндометриозу среди аллелей генов *VEGF*, *MUC 2* и *CYP11B2* – новый, перспективный раздел исследований, способный идентифицировать группы риска развития и неблагоприятного течения данного заболевания. Роль полиморфных вариантов генов *VEGF-A*, *MUC2* и *CYP11B2* в патогенезе генитального эндометриоза раскрыта недостаточно, что актуализирует необходимость проведения настоящего исследования.

**Целью исследования** явилось изучение вклада полиморфных вариантов генов неангиогенеза *VEGF-A*, гелеобразующего муцина *MUC2* и фермента метаболизма андрогенов *CYP11B2* в развитие генитального эндометриоза и особенности его течения.

#### **Задачи исследования:**

1. Провести анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов неангиогенеза *VEGF-A* (C(-460)T (rs833061), C(+936)T (rs3025039)), гелеобразующего муцина *MUC2* (C(-15161)T (rs10902088) и T(-12150)C (rs10794288)) и фермента метаболизма андрогенов *CYP11B2* (C(-344)T (rs1799998)) с риском развития генитального эндометриоза.
2. Исследовать взаимосвязи полиморфных вариантов гена неангиогенеза *VEGF-A* C(-460)T (rs833061), C(+936)T (rs3025039) с содержанием фактора VEGF-A в крови у женщин с генитальным эндометриозом.
3. Установить вклад полиморфных вариантов генов *VEGF-A*, *MUC 2* и *CYP11B2* в развитие клинических симптомов при генитальном эндометриозе.

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

1. К развитию генитального эндометриоза у женщин предрасполагает носительство полиморфных вариантов генов ангиогенеза *VEGF-A* C(+936)T (rs3025039) (аллеля С и генотипов СС), фермента метаболизма андрогенов *CYP11B2* C(-344)T (rs1799998) (генотипов ТТ). Полиморфизмы генов неангиогенеза *VEGF-A* C(-460)T (rs833061) (генотип ТТ), C(+936)T



(rs3025039) (аллель Т и генотип ТТ), гельобразующих муцинов *MUC2* T(-12150)C (rs10794288) (генотип СС) и фермента метаболизма андрогенов *CYP11B2* C(-344)T (rs1799998) (генотип СС) ассоциированы с пониженным риском развития генитального эндометриоза.

2. Концентрация цитокина VEGF-A в крови у пациенток с генитальным эндометриозом по всем генотипам локуса C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* ниже, чем у женщин без эндометриоза.

3. При генитальном эндометриозе у женщин к развитию диспареунии и дисхезии предрасполагают полиморфизмы T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* и C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2*. Образование эндометриом ассоциировано с носительством генотипа СС и аллеля С полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A*.

### **Научная новизна**

С привлечением широкого комплекса современных методов исследования было проведено изучение функциональной активности генов *VEGF-A*, *CYP11B2* и *MUC2*, вовлеченных в регуляцию процессов развития эндометриоза. Впервые были выявлены полиморфизмы генов неоангиогенеза *VEGF-A* C(-460)T (rs833061), C(+936)T (rs3025039), гельобразующих муцинов *MUC2* C(-15161)T (rs10902088) и T(-12150)C (rs10794288) и ферментов метаболизма андрогенов *CYP11B2* C(-344)T (rs1799998), ассоциированные с риском развития генитального эндометриоза. Впервые установлена связь полиморфизмов T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* и C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* с развитием клинических симптомов и форм генитального эндометриоза у женщин. Приоритетными являются данные, свидетельствующие о патогенетической связи хронического эндометрита с эндометриозом у пациенток Северо-Западного федерального округа России.

### **Теоретическая и практическая значимость**

*Теоретическая значимость:*

Получены знания фундаментального характера о предрасполагающей роли полиморфных вариантов генов неоангиогенеза *VEGF-A*,

гельобразующего муцина *MUC2* и фермента метаболизма андрогенов *CYP11B2* к развитию и особенностям течения генитального эндометриоза.

*Практическая значимость работы обусловлена* возможностью поиска новых точек воздействия в профилактике, прогностике и лечении репродуктивных заболеваний, выявлении факторов риска их возникновения. Результаты исследования могут послужить базисом для создания панели иммуногенетических маркеров, с целью эффективной доклинической диагностики, выбора рациональной тактики ведения пациенток с генитальным эндометриозом, а также предупреждения развития заболевания у лиц с отягощенным семейным анамнезом.

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры фундаментальной медицины медицинского института и Института Живых Систем БФУ им. И. Канта г. Калининграда, а также в практику Клиники Высоких Технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ г. Санкт-Петербурга.

### **Методология и методы исследования**

Работа выполнена на базе Центра иммунологии и клеточных биотехнологий БФУ им. И. Канта, с использованием высокопроизводительных и высокотехнологичных методов исследования.

Материалом исследования являлась венозная кровь и биоптаты эндометрия, взятые у пациенток, принявших участие в исследовании (пациентки с гистологически установленным генитальным эндометриозом и группа сравнения (пациентки, не имеющие очагов эндометриоза при проведении лапароскопии).

### **Основные методы исследования:**

1. Клинико-диагностические. При первичном обращении проводился сбор анамнеза, общеклинический и гинекологический бимануальный осмотр. На 5-7 день менструального цикла проводилось ультразвуковое исследование органов малого таза и магнитно-резонансная томография органов малого таза.

2. Все материалы, полученные в ходе оперативного лечения, направлялись на гистологическое исследование.
3. Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.
4. Методом иммуноферментного анализа оценивали содержание ангиогенного цитокина VEGF-A в крови.
5. Статистический анализ полученных данных. Полученные данные подвергались обработке с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 26 для Windows.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Высокую степень достоверности полученных результатов подтверждает достаточный объем клинико-экспериментального материала, применение современных методов исследования (диагностических, иммунологических, молекулярно-генетических), используемые методические подходы, высокотехнологичное оборудование, а также адекватные критерии статистической обработки результатов.

Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на симпозиуме «Репродуктивное здоровье женщины в фокусе внимания» (Санкт-Петербург, 2017), III-м Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2017), дискуссионном клубе «Инфильтративный эндометриоз: сложности диагностики и перспективы комбинированного лечения» (Санкт-Петербург, 2017), II-м научном конгрессе с международным участием «Инновации в акушерстве, гинекологии и репродуктологии» (г. Санкт-Петербург, 2019), XIV Международном конгрессе по репродуктивной медицине (г. Москва, 2020). Работа осуществлена при финансовой поддержке Российского научного фонда (16-15-10031), Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ (НШ-2495.2020.7) и Государственного задания (№ FZWM-2020-0010).

### **Публикации**

Результаты диссертационного исследования опубликованы в 6 печатных работах, в том числе: 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций, 2 статьи по материалам конференций, 1 патент РФ на изобретение.

### **Структура и объем диссертации**

Текст диссертации изложен на 111 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, выводов, списка использованной литературы. Работа проиллюстрирована 2 рисунками и 33 таблицами. Библиографический указатель включает 168 источника (122– иностранных и 46 – отечественных).

### **Личный вклад автора**

Автор непосредственно участвовал в разработке дизайна и планировании исследования, лично проводил пробоподготовку и лабораторные исследования биоматериала. Результаты получены, проанализированы и обобщены в выводах и положениях автором лично.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Эндометриоз: определение, эпидемиология, классификация, клиника

Эндометриоз – хроническое, рецидивирующее, системное заболевание, формирующееся на фоне эпигенетических модификаций генов, нарушений гормонального и иммунного гемостазов, приводящих к росту и развитию ткани (желез и стромы), морфологически и функционально подобной эндометрию, вне нормальной локализации слизистой оболочки полости матки [13, 78]. Эндометриоз представляет собой распространенное гинекологическое заболевание, характеризующееся наличием эндометриальных имплантатов на внеутробных (эктопических) участках, что приводит к хроническому воспалению, боли и бесплодию [9, 122].

По данным Международной Ассоциации Эндометриоза более 170 миллионов женщин всей планеты репродуктивного возраста страдают эндометриозом [27, 40, 86, 109]. Впервые заболевание проявляется в период с менархе до 24 лет. Эндометриоз – социально значимая болезнь, поскольку снижает качество жизни (сопровождается низкой трудоспособностью, бесплодием) и требует существенных финансовых затрат [3].

При поддержке Всемирного исследовательского фонда изучения эндометриоза в 12 крупных медицинских центрах из 10 стран Европы было выполнено проспективное многоцентровое исследование, посвященное оценке затрат на лечение женщин, страдающих эндометриозом. Установлено, что среднегодовые общие затраты на каждую женщину составили от 8559 до 10599 евро, что сопоставимо с затратами на пациента с сахарным диабетом 2 типа [56, 90].

У женщин с тазовой болью и/или бесплодием частота заболеваемости эндометриозом достигает 35-50%. В случае установленного диагноза и проведения комплексного лечения, частота вынашивания беременностей у данной категории пациенток, спонтанно или с помощью вспомогательных

репродуктивных технологий составляет не более 50-70% [26, 111]. Эпизод невынашивания беременности ведет к психоэмоциональным потрясениям, а также к нанесению ятрогенных травм эндометрию, посредством выскабливания полости матки, что в свою очередь приводит к развитию хронического эндометрита и спаечного процесса полости матки и труб [35, 54, 57, 94, 164].

Эндометриоз является вторым наиболее распространенным показанием к оперативному вмешательству у женщин пременопаузального возраста. Вариабельное расположение эндометриозных гетеротопий определяет разнообразие форм и многогранность клинической картины заболевания.

### **Классификация и клинические проявления эндометриоза**

С начала изучения эндометриоза, было предложено более 30 классификаций. В России впервые классификация эндометриоза яичников была предложена в 1977 году А.Н. Стрижаковым, которая определяла 4 степени тяжести: I степень – мелкие (до 2 мм) эндометриозные гетеротопии на серозе яичников и на брюшине Дугласова пространства; II степень – одностороннее образование (эндометриома) яичника, диаметром до 6 см и мелкие эндометриозные гетеротопии в Дугласовом пространстве, а также спаечный процесс; III степень – двусторонние эндометриомы, размером более 6 см, эндометриозные гетеротопии на серозе матки, маточных труб, брюшине малого таза, выраженный спаечный процесс; IV степень – двусторонние эндометриомы больших размеров вовлеченные в конгломерат с соседними органами. Однако, данная классификация не позволяла оценить и описать другие эндометриозные поражения, что потребовало более детальной модификации классификации заболевания [1, 4].

Согласно клиническим рекомендациям Министерства Здравоохранения Российской Федерации «Эндометриоз» от 17.11.2020 года существуют следующие клинические классификации эндометриоза:

1. по происхождению;
2. по глубине поражения;

3. по локализациям экстрагенитального эндометриоза;
4. по анатомическим проявлениям;
5. по локализации и площади поражения, сопутствующему спаечному процессу;
6. по морфофункциональным особенностям и этиопатогенезу;
7. по анатомическим характеристикам и необходимому объему вмешательства, то есть клиническая классификация эндометриоза;
8. по Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем:

Эндометриоз (N80):

N80.0 – Эндометриоз матки;

N80.1 – Эндометриоз яичников;

N80.2 – Эндометриоз маточных труб;

N80.3 – Эндометриоз тазовой брюшины;

N80.4 – Эндометриоз ректовагинальной перегородки и влагалища;

N80.5 – Эндометриоз кишечника;

N80.6 – Эндометриоз кожного рубца;

N80.8 – Другой эндометриоз;

N80.9 – Эндометриоз неуточненный [43].

Первой классификацией эндометриоза, получившей международное широкое применения, явилась пересмотренная классификация Американского Общества Фертильности (R-AFS/ASRM).

По результатам лапароскопии, исходя из суммы баллов, устанавливается степень тяжести эндометриоза.

I степень - минимальная (1-5 баллов), II степень - легкая (6-15 баллов), III степень – средняя (16-40 баллов), IV степень - тяжелую (более 40 баллов).  
Распределение баллов в соответствии с локализацией и распространением очагов эндометриоза представлены в таблице 1.

**Таблица 1.** Пересмотренная классификация эндометриоза Американского общества фертильности 1985 года

Поражение и локализация			Детализация поражения, баллы		
			Менее 1 см	1-3 см	Более 3 см
Брюшина	Поверхностный		1	2	4
	Глубокий		2	4	6
Яичники	Правый	Поверхностный	1	2	4
	Левый	Глубокий	4	16	20
Спайки			Менее 1/3 запаяно	1/3-2/3 запаяно	Более 2/3 запаяно
Яичники	Правый	Пленчатые	1	2	4
		Плотные	4	8	16
	Левый	Пленчатые	1	2	4
		Плотные	4	8	16
Трубы	Правая	Пленчатые	1	2	4
		Плотные	4*	8*	16
	Левая	Пленчатые	1	2	4
		Плотные	4*	8*	16
Примечание: * - полностью запаянный фимбриальный отдел трубы оценивается как 16 баллов					

Перитонеальный эндометриоз определяется на поверхности органов брюшной полости, тогда как глубокий инфильтративный эндометриоз характеризуется глубоким распространением ткани с прорастанием в мышечный слой кишечника, мочевого пузыря, диафрагмы и других органов. Также отдельно выделяют эндометриомы – капсулированные образования яичника, с характерным «шоколадным» содержимым [153]. Разнообразие форм эндометриоза определяет отличительные особенности клинических проявлений [1, 149].



В отличие от поверхностного эндометриоза, глубокий инфильтративный эндометриоз часто вызывает серьезные клинические симптомы, включая значительную тазовую боль, нарушение функций прилегающих органов. Пациенткам с глубоким инфильтративным эндометриозом, не отвечающим на консервативную терапию, зачастую необходимо объемное хирургическое лечение, требующее резекции пораженной части кишечника и ткани малого таза. Эндометриомы, посредством давления на интактные ткани яичника, снижают овариальный резерв, а также запускают каскад местных воспалительных механизмов, что в совокупности влияет на образование спаечного процесса, бесплодия и канцерогенеза [120, 149].

Внутренний эндометриоз или аденомиоз подразделяется на две формы:

- очаговую (узловая форма), локальное распространение эндометриоидной ткани в миометрий, по своей структуре напоминающую миому матки [30].

- диффузный, в данном случае эндометриоидная ткань распространяется по всей толще миометрия не имея четких границ.

Наружный генитальный эндометриоз подразделяется на:

- эндометриоз яичников,
- эндометриоз маточных труб,
- эндометриоз тазовой брюшины,
- эндометриоз ректовагинальной перегородки, влагалища и вульвы [40].

Генитальный эндометриоз может проявляться кардинально различными симптомами. Зачастую аденомиоз и ретроцервикальный эндометриоз характеризуются выраженной дисменореей. Но аденомиоз чаще проявляется гиперполименореей, в отличие от ретроцервикального эндометриоза, который проявляется диспареунией и болью, иррадиирующей в прямую кишку. Тазовые боли, некупирующиеся однократным приемом нестероидных противовоспалительных средств, являются патогномичным

симптомом при локализации гетеротопий на ректовагинальной перегородке, тазовой брюшине и придатках. Характерным признаком данных локализаций также является диспареуния. Эндометриоз шейки матки может проявляться посткоитальными кровотечениями [16, 41].

Наиболее часто в структуре наружного генитального эндометриоза, выявляется эндометриоз яичников. Он составляет от 70,2% до 75,5% от всех поражений [11]. Чаще всего данная локализация характеризуется возникновением тазовых болей на стороне поражения, однако данная форма длительное время может протекать бессимптомно [20, 32].

Довольно часто эндометриоз яичников является одной из первостепенных причин бесплодия, а также по топографическому принципу приводит к поражению мочеточников и развитию ретроцервикального эндометриоза [133].

При локализации эндометриоза в области истмического отдела матки и задней поверхности шейки матки, а также в проекции крестцово-маточных связок, вероятность инфильтративного роста данных гетеротопий резко возрастает [12, 74].

Эндометриоз брюшины органов малого таза, как правило, выявляется случайно при проведении диагностической лапароскопии по поводу бесплодия или по поводу других заболеваний. Удивительно, что при ретроспективной оценке жалоб пациенток с подтвержденным гистологическим диагнозом - эндометриоз, выявлено, что дисменорея встречалась в 72% случаев, аномальные маточные кровотечения в 43% случаев, гиперандрогения в 40% случаев [19, 20]. Эндометриоз ассоциированная боль разнообразна ввиду различной локализации процесса и характеризуется от резкой приступообразной до тупой в глубине таза. Топографическое расположение очага и глубина его инвазии опосредует иррадиацию боли в смежные органы и ткани. Боль при эндометриозе имеет циклический характер, однако при глубоких инфильтративных формах может быть постоянной [32].

### 1.1.1. Роль хронического эндометрита в патогенезе эндометриоза

В механизме защиты эндометрия, в том числе и эктопичного, участвуют гельобразующие муцины, за счет формирования высокомолекулярного вязко-эластичного слоя. В период «имплантационного окна» повышается экспрессия муцина для инициации бластоцисты, при обнаружении бластоцисты низкого качества муцины препятствуют имплантации. В то же время при успешной имплантации бластоцисты, муцины защищают будущий эмбрион от иммунной системы матери. Хронический эндометрит – это стойкий воспалительный процесс в базальном слое эндометрия, приводящий к избыточному синтезу муцинов, что в свою очередь повышает экспрессию эстрогеновых рецепторов и нарушает циклическую трансформацию эндометрия. Гиперпролиферативная ткань слизистой оболочки матки с усиленными свойствами к адгезии, а также нарушенным апоптозом попадая в брюшную полость имеет больше шансов на выживание [69, 72, 84, 118, 128]. Вышеуказанные данные позволяют предположить роль муцинов в развитии эндометриоза на фоне хронического эндометрита, а также не исключают влияние эндометриоза на развитие и поддержание воспалительного процесса в базальном слое эндометрия [59, 61, 76, 83, 129, 130].

Эндометриоз сопровождается повышением экспрессии мРНК генов *IL-1B*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-12A*, *TNF $\alpha$* , *IL-10*, *TLR9*, *LIF*, *VEGF-A* и дисбалансом соотношения провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, что может поддерживать течение других иммунозависимых заболеваний репродуктивной системы, таких как аутоиммунный эндометрит [22, 68, 72, 73, 108, 137, 140].

### 1.1.2. Характеристика и механизм формирования болевого синдрома при эндометриозе

Механизм боли при эндометриозе описан Morotti M., Vincent K., Becker C.M. [121, 122] и заключается в следующем:

- Эндометриоидные гетеротопии, имплантируясь в брюшину, вызывают воспалительную реакцию за счет выделения медиаторов воспаления, таких как простагландины, гистамины и кинины;
- За счет глубокой инфильтрации гетеротопий поражаются нервные окончания.

Одним из основополагающих механизмов боли при эндометриозе является образование в перитонеальных эндометриоидных гетеротопиях большего количества мелких немиелинизированных волокон [137].

За счет образования собственной иннервации, которая в свою очередь создает прямое и двустороннее взаимодействие между эндометриоидной гетеротопией и центральной нервной системой, обеспечивается механизм вовлечения динамически и гормонально чувствительной нервной системы в процесс образования боли. В свою очередь этот путь приводит к многогранному индивидуальному образованию боли, а также у отдельных женщин данный механизм может влиять на образование боли вне зависимости от заболевания [42, 137].

Болевой синдром при эндометриозе отличается разнообразием в зависимости от уровня поражения. Эндометриоидные кисты яичников при воздействии физических факторов могут вызвать острую боль с развитием «химического перитонита» за счет разрыва. Разрыв эндометриомы не всегда может вызывать острый болевой синдром, например, при образовании небольшого отверстия в стенке кисты появляется эпизод хронической боли. [29]. Боль при физической нагрузке, при переходе из горизонтального в вертикальное положение возникает за счет рубцов, образование которых вызывает деформацию и натяжение тканей и органов. Коликоподобная

спастическая боль и «боль растяжения» во время дефекации появляется за счет фиксации кишечника спайками и рубцами с ретракцией, что приводит к растяжению и раздражению кишки. При выраженном спаечном процессе присутствует выраженная диспареуния за счет фиксации матки в ретропозиции с образованием рубцовых деформаций крестцово-маточных связок. [29].

В случае локализации эндометриoidных имплантов в желудочно-кишечном тракте характерными симптомами являются диарея, ректальные кровотечения, тенезмы, симптомы обструкции толстой кишки, обычно данные симптомы связаны с менструацией. При поражении мочевыделительной системы, при менструации наблюдается гематурия или обструкция мочеточника [44]. При эндометриозе хирургических рубцов или пупка, отмечаются циклические боли и кровотечения из зоны поражения [44, 155].

Многогранность, и в первую очередь, субъективность ощущения и описания боли, определила необходимость объективизации отражения жалоб в виде алгологического показателя. В 1976 году Huskisson E.C. внедрил аналоговую шкалу ВАШ (Visual Analogue Scale (VAS)), которая до сих пор отвечает заявленным требованиям. На линии длиной 10 см пациентке предлагается указать степень боли, где: 0-4 мм – нет боли; 5-44 мм – слабая боль; 45-74 мм – умеренная боль; 75-100 мм – сильная боль.

## **1.2. Этиология и патогенез эндометриоза. Теории возникновения эндометриоза**

Этиопатогенетические аспекты эндометриоза на сегодняшний день до конца неизвестны. Существует множество теорий и гипотез о происхождении эндометриоза, но ни одна из них не является достоверной. С каждым годом появляется все больше данных, подтверждающих важную роль эпигенетической модификации генов, благодаря которым под влиянием

неблагоприятных факторов нарушается соотношение половых стероидов и включаются патологические каскады синтеза цитокинов, простагландинов и металлопротеиназ, что нарушает процесс естественного апоптоза и элиминацию атипично расположенных эндометриоидных клеток.

### **1.2.1. Ретроградная менструальная модель**

Трансплантационная или имплантационная теория возникновения эндометриоза, в 1925 году Джоном Сэмпсоном на сегодняшний день занимает одно из лидирующих мест [124]. Считается, что в фазе десквамации, эндометриальные эмболы мигрируют через фаллопиевы трубы и венозную сеть в брюшную полость или другие экстрагенитальные органы, где благодаря нарушению местного иммунитета и процессам неоангиогенеза, происходит адгезия и имплантация эндометриоидных гетеротопий [88]. В связи с индивидуальным строением маточных труб появилось логичное мнение, что более прямое расположение фаллопиевых труб индуцирует ретроградные менструации, тогда как извилистый ход фаллопиевых труб препятствует развитию данного механизма [138].

При никотиновой интоксикации, воспалительных заболеваниях на развитие ретроградной менструации влияет дефект транспортной функции реснитчатого эпителия фаллопиевых труб [91, 98]. Но ретроградная менструация определяется у многих женщин, не имеющих эндометриоза, данный факт определяет значимость адгезии и инвазии эндометриальных клеток. В свою очередь, особенности функционального слоя напрямую определяются данные процессы. Известно, что за несколько дней, до и во время фазы десквамации менструального цикла повышается выраженность матриксных металлопротеиназ (ММП) [131]. ММП – ферменты, при попадании которых в брюшную полость посредством ретроградной менструации, разрушаются межклеточные и клеточно-матриксные контакты мезотелия. ММП, являясь молекулярным субстратом для адгезии и инвазии,

регулируются полиморфизмами генов и позитивных регулятором, таких как интерлейкин-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) и внеклеточных индукторов, может усилить экспрессию и активность ММП, либо снизить активность тканевых ингибиторов [2, 60, 63, 114]. Существует альтернативное мнение противников имплантационной теории, данные которых опровергают развитие эндометриоза по описанному механизму. Например, регургитация десквамированного эндометрия менструальной крови в брюшную полость при проходимых маточных трубах определяется у большинства женщин [133]. Соответственно, для внедрения и дальнейшего развития клеток эндометрия на тканях малого таза необходимы дополнительные факторы и условия, которые обеспечат развитие данной гетеротопии [52].

Таким образом, имплантационная теория имеет ряд неопровержимых фактов возникновения эндометриоза, но не способна объяснить все аспекты возникновения эндометриоидных гетеротопий и развития данного заболевания.

### **1.2.2. Метапластическая (целомическая) теория**

В 1897 году Н.С. Иванов и в 1903 году R. Meuer предложили теорию развития эндометриоза, названную метапластической [15]. Авторы предположили, что предшественниками эндометриодных гетеротопий является мезотелий брюшины, эндотелий лимфатических сосудов, эпителий канальцев почек и ряда других тканей. Под воздействием факторов внутренней и внешней среды, данные клетки могут метаплазмироваться.

Данная теория дает понимание возникновения экстрагенитального эндометриоза [31, 53]. Помимо этого, наличие переходных гистологических форм от мезотелия к эндометриоидным гетеротопиям яичников, которые были обнаружены при проведении гистологического исследования, свидетельствует за метапластическую теорию развития эндометриоза [122]. При развитии примордиального фолликула происходит инвагинация

мезотелия в кору яичника. Предполагается, что за счет этого механизма происходит метаплазия [104]. Данная теория не получила признания по причине отсутствия неопровержимых доказательств развития эндометриоза [38, 161].

### **1.2.3. Дезонтологическая теория**

Теория, которая имеет лишь исторический интерес, предполагала, что очаги эндометриоза происходят из остатков мюллеровых протоков [154]. В поддержку дезонтологической теории можно отметить, что при эндометриозе часто определяются пороки развития репродуктивной системы [82]. Описанные случаи выявленного эндометриоза у девочек в период от телархе до менархе, которые были прооперированы по поводу хронической тазовой боли, тоже свидетельствуют в пользу данной теории [66, 85, 117]. В настоящее время дезонтологическая теория не получила достаточно научных доказательств.

### **1.2.4. Гормональная теория**

Абсолютная или относительная гиперэстрогения и гипопрогестеронемия - неотъемлемые аспекты развития эндометриоза, которые развиваются в случае нарушения взаимосвязей на пяти уровнях регуляции менструального цикла: цирхорального ритма продукции релизинг – факторов гипоталамуса, оказывающих влияние на циклическую выработку гонадотропинов аденогипофизом, метаболизма и синтеза половых стероидов [34].

Первично эстрадиол синтезируется в большей части theca клетками яичников. В синтезе эстрогенов участвуют процессы ароматизации андрогенов надпочечниками, адипоцитами, дермой. Доказано, что



эндометрий, особенно в пролиферативную фазу, секретирует эстрогены и андрогены в количествах, аналогичных уровню плазмы крови [19, 23, 67, 70].

К развитию абсолютной гиперэстрогении приводит повышенная секреция эстрогенов персистирующим фолликулом или при избыточной атрезии фолликулов. Также первопричиной гиперэстрогемии является избыточный синтез эстрона за счет ароматизации андростендиола и накопления эстрогена в адипоцитах при ожирении.

Роль андрогенов в патогенезе эндометриоза за счет избыточного синтеза эстрогенов достаточно не исследована. Однако, выявлены рецепторы андрогенов в эндометриальных клетках, что не исключает их роль в патогенезе эндометриоза [107].

Основным фактором пролиферации эндометрия является абсолютная и относительная гиперэстрогения в условиях отсутствия антипролиферативного эффекта прогестерона [34].

Гипопрогестеронемия приводит к нарушению трансформации эндометрия, железы эндометрия не синтезируют гликозаминогликаны, гликопроиды, гликоген, не наблюдаются децидуальные превращения [160].

Эпигенетические дефекты эндометриоидных гетеротопий способны запустить синтез цитокинов, простагландинов и металлопротеиназ. Кроме того, данные структуры способны к самоподдержанию за счет гиперэкспрессии ароматаз [39, 77].

Развитие эндометриоза поддерживается за счет хаотичных пиковых выбросов фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов. Учитывая механизм самоподдержания гетеротопий, можно предположить, что гормональные влияния непостоянны и непредсказуемы [34].

Доказано, что организм женщин с эндометриозом, сопровождающегося болевым синдромом и бесплодием, испытывает сильный стресс. Проводилось множество сравнительных исследований, определяющих уровень кортизола и пролактина в сыворотке крови у пациенток с эндометриозом и без эндометриоза. Smith et al. (2002) выявили, что уровень

кортизола в доминантном фолликуле у женщин с эндометриозом был снижен по сравнению с группой условно здоровых доноров. Хотя роль глюкокортикоидов в фолликулогенезе не изучена, известно, что в период эмбриональной имплантации отмечаются более высокие концентрации внутрифолликулярного кортизола. Иммуносупрессивное влияние глюкокортикостероидов неоспоримо, что показывает их участие в запуске одного из основных механизмов патогенеза эндометриоза [160].

В литературе имеются противоречивые данные о взаимосвязи гиперпролактинемии и эндометриоза. Haney et al. (1984) определили, что эктопический эндометрий у женщин с эндометриозом не выделяет пролактин в количествах, достаточных для повышения его концентрации в брюшной жидкости, однако Esmaeilzadeh et al. (2015) установили корреляцию уровня пролактина и тяжести эндометриоза у женщин, страдающих эндометриозом [56].

Активация ароматаз также происходит под действием простагландина E<sub>2</sub>, который стимулируется в эндометриоидной ткани цитокинами и эстрадиолом, за счет влияния циклооксигеназы – 2. Ранее было выявлено, что экспрессия COX-2 увеличена в перитонеальных макрофагах у женщин с эндометриозом различной степени, в то время как экспрессия COX-1 увеличена у пациенток с эндометриозом тяжелой степени [61, 62, 92, 100]. Повышенная экспрессия как COX-1, так и COX-2 в перитонеальных макрофагах может способствовать увеличению концентрации простагландина E<sub>2</sub> в брюшной жидкости и играть важную роль в развитии эндометриоза [92, 132, 136].

Существует множество пациенток с нарушением функции гипоталамус-гипофиз-яичниковой системы, не имеющих эндометриоза [34]. Это позволяет смотреть на проблему развития эндометриоза шире и глубже.

### 1.2.5. Иммунологическая теория

Для имплантации и прогрессирования эндометрия за пределами матки, необходимы благоприятные условия, которые могут быть достигнуты путем изменения соотношения про- и противовоспалительных цитокинов [70].

С 1975 года активно изучаются иммунологические аспекты в развитии наружного генитального эндометриоза. В ходе данных исследований выявлены изменения общего и местного иммунитета, благодаря которым происходит возникновение и прогрессирование эндометриоза. М. Jonesco и С. Popesco (1929) предложили теорию, где эндометрий вне полости матки представляет собой аутоантигены. При этом основополагающим фактором является иммуносупрессивное действие глюкокортикостероидов на фоне гиперэстрогении [18]. Dmowski W.P., (1995) установил, что наличие антиэндометриальных аутоантител, таких как: IgG- и IgA-антитела к яичниковой и эндометриальной тканям в сыворотке крови, в секретах влагалища и шейки матки, ассоциированы с наличием эндометриоза [149]. Позднее было установлено, что повышение уровня IL-1 $\alpha$  в цервикальной слизи иранских женщин также ассоциировано с развитием эндометриоза [115]. Существует мнение, что эндометриоидные гетеротопии подавляют иммунитет [14].

При эндометриозе нередко выявляются признаки иммунодефицита и аутоиммунизации, создающие благоприятную среду для развития эндометриоидных гетеротопий [15]. Было выдвинуто предположение, что клетки, осуществляющие иммунный надзор – макрофаги, способны транспортировать в брюшную полость эктопические клетки эндометрия. Установлено, что при наружном генитальном эндометриозе общее количество и активность перитонеальных макрофагов возрастает. Кроме того, тяжесть эндометриоза зависит от макрофагальной активности [113]. Перитонеальные макрофаги высвобождают простагландин E<sub>2</sub>, гидролитические ферменты, цитокины, факторы роста, и инициирующие

тканевые повреждения. Данные ферменты регулируют процессы клеточной адгезии, транспорта, имплантации, инфильтрации, которые влияют на развитие заболевания [110].

Неотъемлемой частью развития данного заболевания является инфильтрация лейкоцитов в очаг эндометриоза [106]. D'Hooghe et al. (1996) исследовали концентрацию лейкоцитов у самок бабуинов. Было отмечено высокое содержание лейкоцитов в перитонеальной жидкости у бабуинов со спонтанным эндометриозом, но не у животных с индуцированным заболеванием. Это позволяет предположить, что изменения в лейкоцитарных популяциях перитонеальной жидкости могут привести к развитию эндометриоза. В подтверждении этого Oosterlynck D.J. и соавт. (1991) обнаружили снижение цитотоксической активности по отношению к эндометрию у пациенток с эндометриозом [101, 108, 148].

При изучении концентрации цитокинов в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом было выявлено, что концентрация как воспалительных (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ), так и противовоспалительных цитокинов (IL-4) повышалась [94, 145].

Имеются данные, указывающие на то, что измененная секреция IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, IL-18, TNF- $\alpha$ , фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF), ICAM-1, и числа toll-подобных рецепторов при эндометриозе обуславливает способность эндометриоидной стволовой клетки к миграции и имплантации в ткани [168].

### **Интерлейкин-1**

IL-1, является медиатором воспаления и иммунного ответа, вырабатывается активированными макрофагами, индуцирует синтез простагландинов и фибриногена, стимулирует пролиферацию фибробластов. Jiang J. и соавторы (2019) при исследовании цитокинов в перитонеальной жидкости обнаружили отсутствие разницы IL-1 у женщин с эндометриозом и контрольной группы [58, 134].

В проспективном исследовании случай-контроль, были определены более высокие уровни IL-1 $\beta$  и sTNFR-2 в плазме крови пациенток с эндометриозом по сравнению с контрольной группой. Viganò P. и соавт. (2003) отметили, что IL-1 $\beta$  повышает концентрацию молекул межклеточной адгезии ICAM-1, вырабатываемых клетками эндометрия [47].

### **Фактор некроза опухоли**

TNF- $\alpha$  является основным провоспалительным цитокином, вырабатывается моноцитами, макрофагами, нейтрофилами и тучными клетками. TNF- $\alpha$  за счет связывания со специфическими рецепторами, посредством активации факторов транскрипции нуклеарного фактора каппа В (NF- $\kappa$ B), запускает синтез медиаторов воспаления и индуцирует пролиферацию и апоптоз эндометриальных стромальных клеток. TNF- $\alpha$  усиливает синтез простагландинов в культуре эпителиальных клеток эндометрия, что способствует прикреплению стромальных клеток к мезотелию [156].

Растворимые молекулы ICAM-1 под действием гиперэстрогении в пролиферативной фазе менструального цикла способствуют снижению механизмов иммунной защиты брюшной полости, что приводит к выживанию эктопического эндометрия [154].

### **Интерлейкин-6**

IL-6 представляет собой плеiotропный цитокин с широким спектром биологических активностей в иммунной регуляции, кроветворении, воспалении и онкогенезе. Секретируется макрофагами, эндотелиоцитами и эндометриальными клетками. Гликопротеин является промоутером активации Т-клеток и дифференцировки В-клеток и влияет на выработку цитокинов [90].

Концентрация IL-6 коррелирует с уровнем эстрогенов на протяжении менструального цикла. Отмечается снижение уровня IL-6 в фазу пролиферации и повышение его уровня во время секреторной фазы у женщин, не имеющих эндометриоза. Установлена корреляция высокого

уровня IL-6 у пациентов с эндометриозом в перитонеальной жидкости [94, 134]. Однако, существуют сообщения об отсутствии значимых отличий в исследуемых группах [125].

### **Интерлейкин-8**

IL-8, аутокринный фактор, продуцируемый гематопоезическими клетками-предшественниками, зрелыми клетками крови и лейкозными клетками. IL-8 способствует выживанию и пролиферации клеток в ответ на кроветворные цитокины и активирует нейтрофилы. Известно, что IL-8 является медиатором ангиогенеза, индуцируя хемотаксическую и пролиферативную активность в эндотелиальных клетках. IL-8 выступает ростовым фактором для эндометриальных клеток. IL-8 может также защищать эктопические клетки от гибели в результате апоптоза [51]. В исследовании цитокинов перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом страдающих бесплодием, было обнаружено повышение концентрации IL-8 в перитонеальной жидкости по сравнению с контрольной группой [65].

### **Трансформирующий фактор роста- $\beta$ и интерлейкин-10**

TGF- $\beta$  является основным иммуносупрессивным цитокином, который поддерживает иммунный гомеостаз. TGF- $\beta$  экспрессируется в эндометрии человека и секретируется клетками эндометрия и макрофагами [143]. TGF- $\beta$  регулирует экспрессию TGF- $\beta$ -рецепторов, ECM (внеклеточный матрикс), молекулы адгезии, протеазы и ингибиторы протеазы. Эти молекулы, такие как интегрины являются ключевыми компонентами процесса ремоделирования тканей, который имеет решающее значение для целостности тканей эндометрия во время менструального цикла. TGF- $\beta$  способствует росту и дифференцировке клеток, миграции, инвазии, ангиогенезу и процессам, которые влияют на результат имплантации эмбрионов, очагов эндометриоза, связанных с эндометриозом спаек и рака эндометрия. Отмечено повышенное содержание TGF- $\beta$  в перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом [158].

IL-10 и TGF- $\beta$  являются известными противовоспалительными цитокинами, способными ингибировать синтез провоспалительных цитокинов. Повышенный уровень IL-10 был обнаружен в сыворотке и перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами без эндометриоза [135]. Высокая концентрация IL-10 и TGF- $\beta$  и пониженная цитотоксичность естественных киллеров (NK), наблюдаемых в эндометриоидных гетеротопиях, показывают, что локальная дисрегуляция продукции цитокинов позволяет имплантировать фрагменты эндометрия в брюшную полость [93, 139, 159].

Провоцируют развитие эндометриоза нарушения иммунного равновесия, таких как активация гиперчувствительности замедленного типа, Т-клеточный иммунодефицит, снижение активности Т-лимфоцитов и NK-клеток при одновременной активации В-клеток [72]. За счет отсутствия адекватного иммунного ответа, образуются эндометриоидные гетеротопии. NK-клетки являются компонентом врожденного иммунитета, данные клетки обладают способностью лизировать мишени и являются эффекторами естественной цитотоксичности, осуществляют преимущественно регуляторную функцию и элиминируют трансформированные и опухолевые, вирусинфицированные, а также измененные другими агентами клетки. У пациентов с эндометриозом функция NK клеток снижена [65, 142]. Недостаточная активность NK-клеток не препятствует имплантации и пролиферации клеток эндометрия. Кроме того, наличие эндометриоза дополнительно повышает выработку иммуносупрессивных агентов, снижающих активность NK-клеток, и соответственно подавляет иммунную защиту и способствует развитию и прогрессированию эндометриоза [119].

### ***Приобретенный иммунитет***

У пациенток с эндометриозом иммунная реакция может возникать как на эутопический эндометрий, так и на нормально расположенный эндометрий. Weed и Arquembourg (1982) были первыми, кто предположил,

что образование антител к эндометрию может объяснить относительно низкий процент наступления беременности у женщин с эндометриозом [150]. Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что дефект иммунитета способствует развитию эндометриоза. Дальнейшее изучение патогенеза эндометриоза с точки зрения иммунной теории позволит более ясно понять механизмы развития заболевания и возможные пути эффективной терапии.

### **1.2.6. Ангиогенез в патогенезе эндометриоза**

Неоангиогенез играет важную роль в развитии эндометриоза. Посредством ангиогенеза физиологически меняется структура эндометрия, после процесса десквамации циклически осуществляется пролиферативная и секреторная фазы менструального цикла. Различные цитокины и факторы роста регулируют этапы ангиогенеза. [146].

Макрофаги способны инициировать неоангиогенез, секретировав проангиогенные факторы [68, 100]. Посредством данных факторов осуществляется пролиферация, миграция и дифференцировка эндотелиальных клеток, с образованием новой сосудистой сети. Завершается процесс неоангиогенеза посредством выработки антиангиогенных факторов макрофагами. Исследования *in vitro* показали, что перитонеальные нейтрофилы и макрофаги секретировали фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), который был усилен TNF- $\alpha$  и IL-6. Было показано, что нейтрофилы и макрофаги могут способствовать неоангиогенезу на ранней стадии эндометриоза. Хемокины и цитокины усиливают ангиогенный сигнал для роста эндометриотической ткани [52, 55, 66, 97].

Неоспорима роль фактора роста эндотелия сосудов в неоваскуляризации эндометриоидных гетеротопий [78]. VEGF синтезируется нейтрофилами и макрофагами, активированными за счет имплантации эутопического эндометрия, способствует активации неоангиогенеза в эутопической ткани [81, 165].



Эндометриоз переходит в хроническую стадию, когда активируются процессы заживления и образования соединительной ткани. Инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I) участвует в образовании соединительной ткани, что сопутствует хроническому течению эндометриоза. Показатель IGF-I в перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом был значительно выше, чем в контрольной группе [105, 106, 166].

Ангиогенез — это сложный динамический процесс формирования сосудов из ранее существовавших. Неотъемлемыми аспектами в неоваскуляризации эндометриозной гетеротопии являются не только процессы ангиогенеза, но и васкулогенеза. Детальное изучение основополагающих процессов формирования васкулярной сети позволит разработать новые более эффективные методы лечения эндометриоза.

### **1.2.7. Роль генетических факторов при генитальном эндометриозе**

Необходимость в персонифицированном подходе диагностики, терапии и проведению мер профилактики заболеваний на доклинической стадии послужила причиной проведения программы «Геном человека». Было выяснено, что у человека существует примерно 35000 генов, кодирующих белки, которые отличаются последовательностью нуклеотидов среди индивидов на 0,1% [143, 147, 151].

Наиболее частой причиной отличий в структуре одного гена (его аллелей) являются замены единичных нуклеотидов, или SNP (single-nucleotide polymorphism) по типу точечных мутаций. Реже встречаются изменения другого рода – различия по числу повторений одинаковых коротких участков в гене (тандемные повторы частей гена) и делеции отдельных нуклеотидов или небольших генных фрагментов [38, 48]. В геноме индивида могут обнаруживаться миллионы переменных участков ДНК - SNP, однако полиморфными можно назвать только те, для которых

частота встречаемости наименее распространенного варианта составляет более 1 % [102, 103].

Распределение SNP неравномерно, на тысячу оснований в среднем встречается один вариабельный нуклеотид. В геноме индивида насчитывают 3,2 миллиарда оснований, из чего следует, что гаплоидные геномы двух неродственных людей отличаются примерно тремя миллионами SNP. Аллельный полиморфизм может касаться как кодирующих, так и некодирующих участков генов. В экзонах полиморфизмы зачастую элиминируются в процессе репарации ДНК и встречается относительно редко  $\approx 5\%$  точечных мутаций, поскольку приводят к нарушениям структуры и изменениям количества синтезируемого белка [25, 36, 47, 50]. Большинство выявляемых SNP-замен чаще касаются концевых регуляторных участков генов, например, области промотора, или располагаются в интронах (некодирующих областях) и не отражаются на аминокислотной последовательности образующегося белка. Однако они могут влиять на скорость генной транскрипции, стабильность и сплайсинг матричной РНК, приводя, тем самым, к увеличению или уменьшению биологической активности и количества (вплоть до полного отсутствия) синтезируемого пептида. Такие замены единичных нуклеотидов, ассоциированные с измененной продукцией белка, носят название «функционального аллельного полиморфизма гена». Функциональный полиморфизм генов обуславливает индивидуальные колебания продукции кодируемых ими белков, что влияет на развитие и исход заболеваний [38].

Предположение о возможности генетической предрасположенности эндометриоза основано на отдельных генеалогических исследованиях [110, 155]. Были изучены клинические случаи возникновения эндометриоза у монозиготных близнецов, которые позволили обнаружить, что экспрессия генов человеческого лейкоцитарного антигена (HLA), IFN- $\gamma$  (интерферон гамма), интегринов и IL-6 была выше среднестатистической [45, 46, 107,

156]. Следовательно, можно предположить, что эндометриоз ассоциирован с экспрессией дефектных генов в результате мутаций.

Эндометриоз является воспалительным заболеванием, которое связано с нарушением концентрации и качества иммунокомпетентных клеток и повышенным уровнем цитокинов [96, 99]. В Греции было проведено исследование, в ходе которого была установлена ассоциация полиморфизмов rs7521902 (*WNT4*) и rs10859871 (*VEZT*) с эндометриозом [151].

В ходе проведения исследования в Бразилии была выявлена чрезмерная экспрессия COX - 2 в эндометриоидной гетеротопии в сравнении с эндометрием из полости матки. Эти данные свидетельствуют о том, что aberrantная активация COX-2 с аномальной продукцией простагландина может способствовать не только патофизиологии, но и прогрессированию заболевания. Кроме того, была выявлена ассоциация полиморфизма G-765C (rs20417) гена *COX-2* с эндометриозом [92]. В 2016 году бразильские ученые доказали, что наличие наследственного аллеля -765G гена *COX -2* ассоциировано с повышенным риском развития эндометриоза у женщин, проживающих на территории Бразилии. Ученые Китайского медицинского университета в 2012 году доказали связь полиморфизма rs10794288 гена *MUC2*, полиморфизма rs10902088 гена *MUC2* с развитием эндометриоза у женщин, проживающих на территории Тайваня.

Проведенный анализ литературы по вопросам генетики генитального эндометриоза показал противоречивость опубликованных данных. Необходимо дальнейшее изучение роли генетических факторов в этиологии эндометриоза. Эндометриоз является сложным малоизученным заболеванием. Вероятно, генетическая теория играет ведущую роль в развитии генитального эндометриоза опосредованно и возможно через аномалии развития и нарушения иммунного гомеостаза. Проведено множество исследований, которые подтверждают роль генетических факторов и нарушений иммунной системы [3]. Следовательно, благодаря имеющимся на сегодняшний день данным предполагают можно

предположить, что полиморфные гены *VEGF* и *COX* способны формировать предрасположенность к развитию эндометриоза. Ряд исследований выявил ассоциацию полиморфизма гена неангиогенеза *VEGF* с пролиферативными заболеваниями. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) путем стимулирования, деления и миграции эндотелиальных клеток близлежащих сосудов индуцирует образование новых сосудов в опухоли. VEGF связывается на эндотелии с двумя трансмембранными тирозин-киназными рецепторами (VEGFR) с целью передачи сигнала внутри клетки, что необходимо для новообразования сосудов [140]. Ген *VEGF* человека расположен на хромосоме 6p21.3 и содержит восемь экзонов, отделенных семью интронами [58, 111].

Не исключено, что существует связь полиморфизмов генов с риском развития эндометриоза. В патогенезе эндометриоза роль полиморфных генов *VEGF* и *COX* остается недостаточно изученной, что определяет актуальность данного исследования. В связи с этим, поиск маркеров предрасположенности к эндометриозу среди аллелей генов *VEGF* и *COX* является новым, перспективным разделом исследований.

Полученные результаты позволят определить группы риска развития и неблагоприятного течения эндометриоза среди

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материалы исследования

В исследование были включены 164 пациентки репродуктивного возраста. Из них: 85 пациенток с гистологически установленным генитальным эндометриозом ( $31,5 \pm 12,5$  лет) - группа 1; 79 женщин без эндометриоза - группа 2 (группа сравнения; пациентки, не имеющие очагов эндометриоза при проведении лапароскопии), сопоставимых по возрасту с 1-й группой женщин ( $31,0 \pm 11,0$  лет). Все женщины, включенные в исследование, фенотипически являлись представительницами славянской популяции. Все участницы исследования длительное время проживали на территории Северо-Западного федерального округа России. Все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

План и дизайн исследования согласованы и одобрены комиссией по этике Балтийского федерального университета им. И. Канта: протокол №2 от 02.03.2018.

Диагноз был верифицирован в ходе проведенного хирургического лечения и подтвержден морфологически. Согласно пересмотренной классификации Американского Общества Фертильности (R-AFS/ASRM), исходя из суммы баллов, была установлена степень тяжести эндометриоза.

Был изучен анамнез пациенток, выявлены жалобы и соматическая патология. Всем пациенткам до хирургического вмешательства проводился общеклинический и гинекологический бимануальный осмотр, ультразвуковое исследование органов малого таза на 5-7 день менструального цикла различными доступами (трансвагинально, трансректально и трансабдоминально). С целью верификации тяжести процесса проводилась магнитно-резонансная томография органов малого таза на 5-7 день менструального цикла. Пациенткам с инфильтративными

формами эндометриоза проводилась видеофиброколоноскопия, фиброгастроскопия.

В группу сравнения (группа 2) включены пациентки, у которых в ходе хирургического вмешательства по поводу подозрения на эндометриоз-ассоциированное бесплодие, проведения хирургической стерилизации, а также по экстренным показаниям (апоплексия или перекрут яичника, внематочная беременность), очаги эндометриоза обнаружены не были.

Материалом исследования служила венозная кровь, взятая интраоперационно из локтевой вены; кровь отбирали в вакуумные пробирки Vacuette с активатором образования сгустка для получения сыворотки или ЭДТА для получения плазмы крови.

### **Критерии включения**

В настоящее исследование включались женщины репродуктивного возраста (18-45 лет) с диагнозом генитальный эндометриоз, верифицированном гистологически. Также критерием включения являлось подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

### **Критерии исключения**

Из исследования исключались женщины моложе 18 и старше 45 лет, с наличием аллергических и острых воспалительных заболеваний различных локализаций, четко ассоциированных с возбудителями, в том числе и гинекологических; экстрагенитальных соматических заболеваний в стадии декомпенсации, онкологических заболеваний, имеющих в анамнезе, наследственные, психические заболевания, с наличием алкогольной и наркотической зависимости.

**Изучение анамнеза** осуществлялось путем расспроса пациента о длительности проявления симптомов заболевания и проведения оперативных вмешательствах на органах малого таза, выявлялась наследственная

предрасположенность к заболеванию. Репродуктивная функция оценивалась путем анализа возраста менархе, регулярности и длительности менструального цикла, объема кровопотери, болезненных ощущений в период самой менструации, а также по количеству, течению и исходу беременностей. В результате сбора анамнеза жизни и заболевания, с клинико-лабораторной и инструментальной оценкой предполагали вероятность наличия генитального эндометриоза. При болевом синдроме с помощью шкалы MacLavery С.М., Shaw R.W, проводилась аналоговая оценка интенсивности болей (табл. 2).

**Таблица 2.** Система оценки интенсивности болей по MacLavery С.М., Shaw R.W. [115].

Причина боли	Интенсивность	Баллы
Боль внизу живота, не связанная с коитусом или менструацией	Нет	0
	Слабая – периодический дискомфорт или боль внизу живота за несколько дней до менструации	1
	Умеренная – периодическая боль в течение менструального цикла	2
	Сильная – ежедневная боль, требующая постоянного приема анальгетиков	3
Дисменорея	Нет	0
	Слабая – боль, сопровождающаяся снижением работоспособности во время менструации, купирующаяся анальгетиками	1
	Умеренная – боль, вызывающая нарушение трудоспособности, требующая постельного режима в течение нескольких часов	2
	Сильная – боль, вызывающая нарушение трудоспособности, которая требует постельного режима от 1 до 3 дней	3
Диспареуния	Нет	0
	Слабая – отмечается дискомфорт	1
	Умеренная – боль, вынуждающая прервать коитус	2
	Сильная – боль, провоцирующая вагинизм	3

### 2.1.1. Клиническая характеристика пациенток

На первом этапе исследования анализировали клинические данные 164 пациенток - 85 из которых страдали эндометриозом и 79 женщин без эндометриоза (группа сравнения). Группы были сопоставимы по возрасту ( $p>0,05$ ). Результаты представлены в таблице 3.

**Таблица 3.** Возраст пациенток,  $M \pm \sigma$

Показатель	Группа сравнения (n=79)	Пациентки с генитальным эндометриозом (n=85)
Возраст, лет	31,0 ± 11,0	31,5±12,5

Согласно пересмотренной классификации Американского Общества Фертильности (R-AFS/ASRM), исходя из суммы баллов, была установлена степень тяжести эндометриоза у женщин.

I степень - минимальная (1-5 баллов), была обнаружена у 1 пациентки; II степень – легкая (5-15 баллов), выявлена у 8 пациенток; III степень – средняя (16-40 баллов) установлена у 16 пациенток. В данном исследовании большинство пациенток имели IV степень - тяжелую (более 40 баллов) – 60 женщин. Анализ возрастного состава женщин с эндометриозом и без него не выявил статистически значимых различий ( $p>0,05$ ) (табл. 4).

**Таблица 4.** Распределение пациенток с генитальным эндометриозом различной степени тяжести по возрасту,  $M \pm \sigma$

Показатель	Группа сравнения (n=79)	Пациентки с генитальным эндометриозом	
		I-II ст. (n=9)	III-IV ст. (n=76)
Возраст, лет	31,0 ± 11,0	31,5 ± 11,5	31,5 ± 12,5

Во всех группах был отмечен одинаковый возраст наступления менархе  $13,0 \pm 2,0$  лет ( $p>0,05$ ). У пациенток с эндометриозом, как и у женщин без него, менструальный цикл составлял в среднем 28 дней (25-31 день) ( $p>0,05$ ).



В 97% случаев менструальный цикл был регулярным, у пациенток с эндометриозом в 42,2% случаев менструации были обильными и длительными ( $p < 0,05$ ), в 8,2% случаев отмечались межменструальные кровотечения ( $p < 0,05$ ).

Также пациентки с генитальным эндометриозом отмечали болевой синдром, связанный с менструацией в 77,6 % случаев, 40% женщин отмечали диспареунию, невынашивание беременности встречалось в 7,1 % случаев. У 20,0% пациенток с эндометриозом роды были через естественные родовые пути, с помощью кесарева сечения - у 7,1%, статистически значимые различия не выявлены ( $p > 0,05$ ). Оценка индекса массы тела (ИМТ) показала, что в основной группе пациенток с избыточной массой тела было 17% (10 человек), а в группе сравнения – 22% (17 человек);  $\chi^2=0,69$ ,  $p=0,41$ . Распространённость ожирения была выше среди женщин без эндометриоза.

Частота встречаемости симптомов среди пациенток с генитальным эндометриозом в зависимости от степени тяжести эндометриоза, представлена в таблице 5.

**Таблица 5.** Частота встречаемости основных симптомов у пациенток с генитальным эндометриозом в зависимости от тяжести заболевания (R-AFS, 1985 г.), абс. (%)

Показатель	Пациентки с генитальным эндометриозом		P*
	I-II ст. (n=9)	III-IV ст. (n=76)	
Дисменорея	3 (33,3)	63 (82,9)	$p < 0,05$
Диспареуния	0	34 (44,7)	$p < 0,001$
Дисхезия	0	14 (18,4)	$p < 0,001$

Показатель	Пациентки с генитальным эндометриозом		P*
	I-II ст. (n=9)	III-IV ст. (n=76)	
Объем менструации: Умеренные Обильные	6 (66,7) 3 (33,3)	36 (47,4) 33 (43,4)	p<0,001
Межменструальные кровотечения	0	7 (9,2)	p<0,001

Примечание: \*согласно точному критерию Фишера

В 54,1% случаев среди пациенток, страдающих эндометриозом, были выявлены жалобы на бесплодие (82,6% – первичное, 17,4 % – вторичное). Обнаружено, что у пациенток с I-II степенью тяжести генитального эндометриоза, первичное бесплодие было установлено в 44,4% случаев, вторичное - у 11,1%. Среди пациенток с (III-IV степенью заболевания, у 44,7% - выявлено первичное бесплодие, а у 9,2% женщин - вторичное (p <0,05). Распространенность первичного и вторичного бесплодия у женщин с различной степенью эндометриоза представлена в таблице 6.

**Таблица 6.** Распространенность первичного и вторичного бесплодия у женщин с различной степенью эндометриоза (R-AFS, 1985 г.)

Бесплодие	Пациентки с генитальным эндометриозом				P*
	I-II ст. (n=9)		III-IV ст. (n=76)		
	абс.	%	абс.	%	
Первичное бесплодие	4	44,4	34	44,7	0,63
Вторичное бесплодие	1	11,1	7	9,2	0,60

Примечание: \*согласно точному критерию Фишера

Во время лапароскопии, у 85,9% пациенток выявлялись эндометриоидные кисты; у 43,0% женщин они были двусторонними.

Распространённость ретроцервикального эндометриоза составила 15,3%.

В результате анализа было установлено, что у пациенток с I-II степенью тяжести эндометриоза, пролиферативный или секреторный эндометрий был выявлен в 22,2% случаев, при III-IV степени - в 11,8% случаев. Гиперпластические процессы в эндометрии были определены только у пациенток с III-IV степенью тяжести эндометриоза, ассоциации хронического эндометрита со степенью тяжести эндометриоза выявлено не было ( $p > 0,05$ ), табл. 7.

**Таблица 7.** Распространенность патологии эндометрия у женщин с различной степенью эндометриоза

Степень эндометриоза	Пролиферативный/секреторный эндометрий	Хронический эндометрит	Гиперпластические процессы эндометрия
I-II (n=8)	2 (25,0%)	6 (75,0 %)	-
III-IV (n=77)	9 (11,7%)	62 (80,5%)	6 (7,8%)
Итого	11	68	6
Всего			85

Установлено, что хронический эндометрит был обнаружен в 82,3% случаев в группе пациенток, страдающих генитальным эндометриозом и в 1,2% - среди группы сравнения ( $p = 0,001$ ), табл. 8, рис. 1.

**Таблица 8.** Распространенность патологии эндометрия в исследуемых группах

Патология эндометрия	Пролиферативный/секреторный эндометрий	Хронический эндометрит	Гиперплазия эндометрия	P*
Группа сравнения (n=79)	73 (92,4%)	1 (1,2%)	5 (6,3%)	<0,001
Пациентки с генитальным эндометриозом (n=85)	11 (12,9%)	68 (80,5%)	6 (7,05%)	<0,001

Примечание: \*согласно точному критерию Фишера

## **2.2. Методы исследования**

### **2.2.1. Гистологическое исследование операционного материала**

Биологический материал (удаленные участки тканей оперированных органов), полученный во время оперативного вмешательства, был фиксирован с помощью 10 % раствора нейтрального формалина в стерильной емкости. Материал был промаркирован, и имел направление, с указанием паспортных данных пациентки, клинического диагноза, объема хирургического вмешательства, даты забора материала, номера истории болезни, описания исследуемых ткани или органа, а также дополнительных данных (сопутствующая гормональная терапия). После чего был направлен для гистологического исследования в национальный центр клинической морфологической диагностики, (г. Санкт-Петербург, ул. О.Дундича, д. 8, к2, лит. А, директор лаборатории Воробьев Сергей Леонидович).

После доставки материала в патологоанатомическое отделение, врач-патологоанатом, проводил макроскопическое описание поступившего материала (органа, ткани). Ткани обезжиривались и заливались парафином для приготовления срезов исследуемых органов и тканей. Срезы толщиной 5 мкм окрашивались по Ван-Гизону и гематоксилин-эозином. Морфологическое исследование полученных препаратов проводили с помощью световой микроскопии при увеличении от 40 до 250.

### **2.2.2. Молекулярно-генетические исследования**

Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов венозной крови, стабилизированной ЭДТА, согласно инструкции производителя с использованием коммерческих наборов «ДНК-Экстран-1» (ЗАО «Синтол» Россия). Протокол выделения ДНК: вносили образец и маркировали необходимое количество пробирок объемом 1,5 мл в соответствии с количеством анализируемых проб и дополнительной пробиркой для отрицательного контроля выделения. Во все пробирки (с исключением

отрицательного контроля) вносилось по 0,3 мл цельной крови, и затем 0,9мл лизирующего раствора 1. Методом переворачивания (8-10 раз) содержимое смешивали. Инкубировали смесь 10 минут, далее 2 минуты центрифугировали при скорости 13 000 об/мин.

Для лизиса ядерной мембраны лейкоцитов в пробирки типа «эппендорф» добавлялось по 0,3 мл Лизирующего раствора 2 (№2) с перемешиванием на вортексе или пипетированием. Для лизиса клеток смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин. Осаждали ДНК путем добавления к лизату 100 мкл Осаждающего раствора 1 (№3).

Степень очистки препаратов ДНК определяли отношением поглощения света при длине волны 260 и 280 нм (A260/280). Полученные значения находились в диапазоне до 1,6-2,0 усл.ед.

### **Аллель-специфическая ПЦР в режиме реального времени**

Генотипирование осуществлялось методом ПЦР с использованием амплификатора LightCycler 480 Instrument II («Roche», Швейцария) и CFX96 («BioRad», США) и наборов для определения полиморфизмов *VEGF-A* T(-460)C (rs833061), *VEGF* C(+936)T (rs3025039), *CYP11B2* T(-344)C (rs1799998), *MUC2* T(-12150)C (rs10794288), *MUC2* C(-15161)T (rs10902088) (компания «Синтол» Россия). Протокол ПЦР состоял из следующих этапов: нагрев реакционной смеси при 95°C - 3 мин и амплификация в течение 40 циклов в следующем режиме: 95°C - 15 сек, 63°C - 40 сек.

### **2.2.3. Иммуноферментный анализ**

Концентрацию VEGF-A в сыворотке крови определяли методом ИФА с помощью соответствующих наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» и автоматического иммуноферментного анализатора «Lazurite» (Dynex Technologies Inc., США) согласно инструкциям тест-систем (ЗАО «Вектор-Бест», Россия).

Двухплащечный иммуноферментный анализатор «открытого типа» «Lazurite» беспечивал полный цикл проведения ИФА в микропланшетном формате, включая спектрофотометрическую верификацию вносимых рабочих растворов и обработку результатов. Во все лунки иммунологического планшета вносили по 100 мкл раствора для разведения образцов, затем добавляли по 100 мкл «0 дозы», стандартов, контролей и образцы сыворотки. Планшет инкубировали при 37°C в течение 2 ч (в режиме интенсивного помешивания) с последующим 5-кратным циклом отмывки. После внесения по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №1 (антитела к VEGF человека с биотином) во все лунки планшет инкубировали в течение 1 ч. Для удаления несвязанных компонентов проводили 5-кратный цикл отмывки. Далее добавляли в каждую лунку 100 мкл рабочего раствора конъюгата №2 (стрептавидин с пероксидазой хрена) и инкубировали в течение 30 мин. Субстратный раствор тетраметилбензидина (ТМБ) был внесен в количестве 100 мкл после 5-кратной промывки с последующей инкубацией в течение 30 мин. при температуре 18-25°C (в темноте). Реакция была остановлена добавлением в лунки раствора 0,5 М серной кислоты (стоп-реагент).

Референсные значения VEGF-A в сыворотке крови: 40-600 пг/мл.

#### **2.2.4. Статистическая обработка результатов**

Полученные данные подвергались обработке с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 26 для Windows. Данные из карт регистрации клинических данных пациента и результаты анализов вводились в специальные таблицы, а в дальнейшем подвергались автоматическому анализу. При описании данных и статистических результатов следовали рекомендациям SAMPL [112]. Нормальность распределения численных значений устанавливали на основании расчета W-критерия Шапиро-Уилка (при объеме выборки <50) и критерия Колмогорова-

Смирнова (при объеме выборки  $> 50$ ). Значения анализируемых показателей каждой группы при соответствии закону нормального распределения представляли в виде средней арифметической ( $M$ ) и стандартного отклонения ( $\sigma$ ), в противном случае – в виде медианы ( $Me$ ) и интерквартильного размаха ( $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ ). Статистическую значимость количественных величин с нормальным распределением оценивали с помощью  $t$ -критерия Стьюдента. Если величина  $t$ -критерия была равна 1,96 и больше, то можно утверждать, что разница показателей не случайна, зависит от определенной причины, вероятность ошибки выявить несуществующие различия не превышает 5% ( $p < 0,05$ ).

Межгрупповые различия количественных величин с распределением, отличным от нормального, определяли с помощью  $U$ -критерия Манна-Уитни. Статистическую значимость различий качественных переменных оценивали с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. В небольших группах или в случае, когда отдельные частоты были в промежутке от 5 до 20 включительно, для оценки достоверности использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса. В случае сравнения групп с количеством наблюдений меньше 20 или в случае, когда отдельные частоты были меньше 5, для оценки достоверности использовали точный двусторонний критерий Фишера.

Сравнение частот встречаемости аллелей и генотипов с целью выявления ассоциации с эндометриозом и клинической картиной, а также соответствие выборок равновесию Харди-Вайнберга проводили с использованием метода  $\chi^2$ . Для определения риска заболевания у носителей определенных аллелей и генотипов вычислялось отношение шансов ( $OR$  – odds ratio) с 95% доверительным интервалом (95% C.I. – Confidence Interval).

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Содержание ангиогенного фактора VEGF-A в сыворотке крови у пациенток с генитальным эндометриозом

У женщин, составивших группу сравнения, уровень VEGF-A в сыворотке крови был равным 341,9 (187,4 - 625,0) пг/мл. У пациенток, страдающих генитальным эндометриозом, содержание VEGF-A в сыворотке крови было значимо ниже по сравнению с показателями в группе женщин без эндометриоза и было равным - 83,7 (63,9 - 201,3) пг/мл ( $p < 0,001$ ) (табл. 9).

**Таблица 9.** Концентрация (пг/мл) VEGF-A в крови в исследуемых группах (Me(Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)).

Показатель	Группа сравнения (n=79)	Пациентки с генитальным эндометриозом (n=85)	p*
VEGF-A	341,9 (187,4-625,0)	83,7 (63,9 – 201,3)	p<0,001

Примечание: \*согласно критерию Манна-Уитни

При проведении сравнительного анализа содержания VEGF-A в зависимости от степени тяжести эндометриоза, только у пациенток с IV стадией эндометриоза было отмечено достоверное снижение исследуемого фактора в 4,5 раза по сравнению с аналогичными показателями группы сравнения ( $p < 0,001$ ). Результаты представлены в таблице 10.



**Таблица 10.** Концентрация цитокинов VEGF-A в сыворотке крови (пг/мл) при эндометриозе различной степени тяжести (Me (Q1-Q3))

Показатель	Группа сравнения (n=79)	Пациентки с генитальным эндометриозом		
		I-II ст. (n=9)	III ст. (n=16)	IV ст. (n=60)
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
VEGF-A	341,9 (187,4-625,0)	371,0 (234,4-486,2)	213,3 (168,2-405,3)	74,4 (56,7-89,8)
Р-значение, различия с группами		P1-2=0,98	P1-3=0,28 P2-3=0,52	P1-4<0,001* P2-4<0,001* P3-4<0,001*

Примечание: \*согласно критерию Манна-Уитни

### 3.1.1. Уровень VEGF-A в крови у пациенток с генитальным эндометриозом и с патологией эндометрия

Сравнительная оценка содержания фактора VEGF-A в крови у женщин с эндометриозом, в зависимости от патологии эндометрия, не выявила статистически значимых отличий ( $p>0,05$ ). Результаты представлены в таблице 11.

**Таблица 11.** Содержание VEGF-A в крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом с патологией эндометрия, (Me (Q1-Q3))

Показатель	Пролиферативный эндометрий (n=11)	Хронический эндометрит (n=68)	Гиперпластический процесс эндометрия (n=6)
VEGF-A	83,2 (73,2 – 213,3)	82,06 (63,46-184,06)	263,51 (72,95-453,28)
Р-значения, различия с группой пролиферативного эндометрия*		0,39	0,41

Примечание: \*согласно критерию Манна-Уитни

**3.2. Исследование однонуклеотидных полиморфизмов гена *VEGF-A***  
**3.2.1. Однонуклеотидный полиморфизм C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A***  
**3.2.1.1. Взаимосвязь полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* с риском развития эндометриоза**

Анализ полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* позволил выявить, что в группе сравнения распределение частот аллелей и генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ( $\chi^2=1,28$ ,  $p=0,26$ ), сходные данные получены и для пациенток с наружным генитальным эндометриозом ( $\chi^2=0,14$ ,  $p=0,71$ ), Результаты представлены в таблице 12.

**Таблица 12.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* в исследуемых группах

Полиморфизм C(-460)T (rs833061) гена <i>VEGF-A</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	ТТ	ТС	СС	Т	С
Группа сравнения (n=79)	31,6	46,8	21,5	55,1	44,9
Пациентки с наружным генитальным эндометриозом (n=85)	16,5	50,6	32,9	41,8	58,2
	$p=0,023^*$ $\chi^2=5,2$	$p=0,63$ $\chi^2=0,23$	$p=0,10$ $\chi^2=2,68$	$p=0,08$ $\chi^2=2,92$	

Примечание: \*-  $p < 0,05$

В ходе проведенного исследования нами обнаружена взаимосвязь генотипа ТТ полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* с пониженным риском развития генитального эндометриоза (OR=0,43, 95%CI: 0,20-0,89,  $p=0,023$ ).

**3.2.1.2. Взаимосвязь полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* с эндометритом у пациенток с эндометриозом**

Анализ полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* позволил выявить, что для группы пролиферативного эндометрия ( $\chi^2=1,34$ ,  $p=0,25$ ) и

для пациенток с хроническим эндометритом ( $\chi^2=1,13$ ,  $p=0,309$ ), распределение частот аллелей и генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Результаты представлены в таблице 13.

**Таблица 13.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* в исследуемых группах

Полиморфизм С(-460)Т (rs833061) гена <i>VEGF-A</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	ТТ	ТС	СС	Т	С
Хронический эндометрит (n= 74)	10,8	52,7	36,5	37,2	62,8
Пролиферативный эндометрий (n= 11)	54,5	36,4	9,1	72,7	27,3
	p=0,001* $\chi^2=13,31$	p=0,31 $\chi^2=1,02$	p=0,07 $\chi^2=3,25$	p=0,002 $\chi^2=9,96$	

Примечание: \*- p <0,05

В ходе проведенного исследования выявлена взаимосвязь генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* с пониженным риском развития эндометрита (OR=0,10, 95%CI: 0,025 – 0,41, p=0,001) и (OR=0,22, 95%CI: 0,18 – 0,27, p=0,002).

### 3.2.1.3. Взаимосвязь полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* с содержанием цитокина *VEGF-A*

Для исследуемых полиморфных вариантов генов частоты генотипов соответствовали ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга в исследуемых группах ( $p>0,05$ ).

При исследовании ассоциации уровня цитокина VEGF–А с полиморфизмом С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* в группе сравнения и группе пациенток с эндометриозом, статистически значимых различий выявлено не было. Результаты представлены в таблице 14.

**Таблица 14.** Содержание (пг/мл) фактора VEGF-A в крови у женщин с эндометриозом, в зависимости от генотипа локуса C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A*, (Me (Q1-Q3))

Полиморфизм C(-460)T (rs833061) гена <i>VEGF-A</i>	Концентрация VEGF-A в сыворотке крови		
	ТТ	ТС	СС
Группа сравнения (n=79)	361,7 (176,5-638,0)	387,9 (206,3-614,1)	331,3 (187,3-520,9)
Пациентки с генитальным эндометриозом (n=85)	79,39 (59,0 – 213,3)	122,8 (72,3-266,1)	77,5 (63,5 – 116,4)
Р*	0,008	<0,001	0,002

Примечание: \*- согласно U-критерию Манна-Уитни

Следует отметить, что для пациенток с генитальным эндометриозом был характерен более низкий уровень исследуемого цитокина по всем генотипам локуса C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A*, относительно женщин без эндометриоза ( $p < 0,05$ , согласно U-критерию Манна-Уитни).

#### **3.2.1.4. Взаимосвязь полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* с проявлением клинических симптомов у женщин с эндометриозом**

При исследовании ассоциации клинических симптомов эндометриоза с полиморфизмом C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* в группе пациенток с эндометриозом, статистически значимых различий выявлено не было. .  
Результаты представлены в таблице 15.

**Таблица 15.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* в зависимости от наличия/отсутствия клинических симптомов в группе женщин с эндометриозом

Полиморфизм С(-460)Т (rs833061) гена <i>VEGF-A</i>	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие симптома	Отсутствие симптома	$\chi^2$ , p
Дисменорея	Распределение частот генотипов (%):	(n=66)	(n=19)	
	ТТ	15,2	21,1	$\chi^2=0,37$ , P=0,54
	ТС	50,0	52,6	$\chi^2=0,04$ , P=0,84
	СС	34,8	26,3	$\chi^2=0,49$ , P=0,49
	Распределение частот аллелей (%):			
	Т	40,2	47,4	
	С	59,8	52,6	$\chi^2=0,63$ , P=0,43
Диспареуния	Распределение частот генотипов (%):	(n=34)	(n=51)	
	ТТ	11,8	19,6	$\chi^2=0,91$ , P=0,34
	ТС	58,8	45,1	$\chi^2=1,54$ , P=0,21
	СС	29,4	35,3	$\chi^2=0,32$ , P=0,57
	Распределение частот аллелей (%):			
	Т	41,2	42,2	
	С	58,5	57,8	$\chi^2=0,91$ , P=0,34
Дисхезия	Распределение частот генотипов (%):	(n=14)	(n=71)	
	ТТ	14,3	16,9	$\chi^2=0,06$ , P=0,809
	ТС	57,1	49,3	$\chi^2=0,29$ , P=0,59
	СС	28,6	33,8	$\chi^2=0,14$ , P=0,70
	Распределение частот аллелей (%):			
	Т	42,9	41,5	
	С	57,1	58,5	$\chi^2=0,02$ , P=0,90

Примечание: \*-p <0,05

### 3.2.1.5. Взаимосвязь полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* с формами эндометриоза

Для исследуемых полиморфных вариантов гена частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга внутри группы исследуемых пациенток в зависимости от форм эндометриоза ( $p > 0,05$ ). Результаты представлены в таблице 16.

**Таблица 16.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* в зависимости от форм эндометриоза

Полиморфизм С(-460)Т (rs833061) гена <i>VEGF-A</i>	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие формы	Отсутствие формы	$\chi^2$ , p
Эндометриоз яичников	Распределение частот генотипов (%):	(n=73)	(n=12)	
	ТТ	15,1	25,0	$\chi^2=0,74$ , P=0,39
	ТС	46,6	75,0	$\chi^2=3,33$ , P=0,07
	СС	38,4	0,0	$\chi^2=6,86$ , P=0,009*
Инфильтративный эндометриоз	Распределение частот аллелей (%):			
	Т	38,4	62,5	$\chi^2=4,94$ , P=0,026*
	С	61,6	37,5	
	Распределение частот генотипов (%):	(n=72)	(n=12)	
ТТ	16,7	15,4	$\chi^2=0,01$ , P=0,909	
ТС	50,0	53,8	$\chi^2=0,07$ , P=0,80	
СС	33,3	30,8	$\chi^2=0,03$ , P=0,86	
Инфильтративный эндометриоз	Распределение частот аллелей (%):			
	Т	41,7	42,3	$\chi^2=0,01$ , P=0,91
	С	58,3	57,7	

Примечание: \*-p < 0,05

При исследовании ассоциации полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* была установлена связь генотипа СС и аллеля С с повышенным риском образования эндометриоза яичников у женщин с эндометриозом (OR=1,27 (1,11-1,45)).

### 3.3. Исследование однонуклеотидного полиморфизма С(+936)Т (rs3025039), гена *VEGF-A*

#### 3.3.1. Взаимосвязь полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* с риском развития эндометриоза

Распределение частот генотипов полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* соответствовало равновесию Харди–Вайнберга в группах женщин без эндометриоза ( $\chi^2=1,58$ ,  $p=0,21$ ) и пациенток с генитальным эндометриозом ( $\chi^2=1,06$ ,  $p=0,30$ ). Результаты представлены в таблице 17.

**Таблица 17.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* в исследуемых группах

Полиморфизм С(+936)Т (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Группа сравнения (n=79)	40,6	38,0	21,4	59,4	40,6
Пациентки с генитальным эндометриозом (n=85)	68,2	30,6	1,2	83,5	16,5
	$p<0,001^*$ $\chi^2=12,71$	$p=0,32$ $\chi^2=0,99$	$p<0,001^*$ $\chi^2=17,34$	$p<0,001^*$ $\chi^2=10,4$	

Примечание: \*- $p < 0,05$

В ходе проведенного исследования выявлены ассоциации аллеля С и генотипа СС полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* с повышенным риском развития генитального эндометриоза (OR=0,29, 95%CI: 0,14-0,60,  $p<0,001$ ) и (OR=3,16, 95%CI: 1,66 – 5,98,  $p<0,001$ ), соответственно. Анализ полученных данных позволил обнаружить взаимосвязь наличия

генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* с пониженным риском развития генитального эндометриоза (OR=3,45, 95%CI: 1,67 – 7,15, p=0,001) и (OR=0,043, 95%CI: 0,006 – 0,335, p<0,001)).

### 3.3.2. Взаимосвязь полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* с хроническим эндометритом у пациенток к эндометриозом

При исследовании полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* нами было установлено, что распределение частот аллелей и генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга в группе пациенток с пролиферативным эндометрием ( $\chi^2=9,6$ , p=0,8) и в группе пациенток с хроническим эндометритом ( $\chi^2=13,2$ , p=0,45). Результаты представлены в таблице 18.

**Таблица 18.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* в исследуемых группах

Полиморфизм С(+936)Т (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Хронический эндометрит (n=74)	66,2	32,4	1,4	82,4	17,6
Пролиферативный эндометрий (n=11)	81,8	18,2	0	90,9	9,1
	p=0,30 $\chi^2=1,08$	p=0,34 $\chi^2=0,93$	p=0,70 $\chi^2=0,15$	p=0,32 $\chi^2=1,00$	

Примечание: p < 0,05

В результате исследования не выявлена взаимосвязь генотипов и аллелей полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* с риском развития хронического эндометрита.



### 3.3.3. Взаимосвязь полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена VEGF-A с содержанием VEGF-A

Для исследуемых полиморфных вариантов генов частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга в группе сравнения и группе пациенток с эндометриозом ( $p > 0,05$ ). Анализ распределения частот генотипов полиморфного сайта C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A* позволил выявить, что в группе сравнения, при наличии гетерозиготного генотипа СТ, уровень цитокина VEGF – А был в 1,5 раза выше в сравнении с гомозиготными генотипами. При исследовании ассоциации уровня цитокина VEGF–А с полиморфизмом C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A* в группе сравнения и группе пациенток с эндометриозом статистически значимых отличий выявлено не было. Результаты представлены в таблице 19.

**Таблица 19.** Концентрация VEGF-A в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом в зависимости от генотипа локуса C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A*, (Me (Q1-Q3))

Полиморфизм C(+936)T (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i>	Концентрация VEGF-A в сыворотке крови		
	CC	CT	TT
Группа сравнения(n=79)	338,1 (159,8-581,6)	541,1 (369,2-680,1)	189,3 (152,4 – 318,6)
Пациентки с генитальным эндометриозом (n=85)	89,8 (63,2-226,0)	80,3 (68,0 –161,4)	196,31
P*	0,001*	<0.001*	

Примечание: \*-p <0,05

Выявлено, что для пациенток с генитальным эндометриозом характерны более низкие показатели уровня исследуемого цитокина по всем генотипам локуса C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A*, в сравнении с женщинами без эндометриоза ( $p < 0,05$ ).

### 3.3.4. Взаимосвязь полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A* с клиническими симптомами у женщин с эндометриозом

Для исследуемых полиморфных вариантов генов частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга внутри группы пациенток с эндометриозом в зависимости от выявления конкретных клинических симптомов ( $p > 0,05$ ).

При исследовании ассоциации клинических симптомов эндометриоза с полиморфизмом C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A* в группе пациенток с эндометриозом, статистически значимых различий выявлено не было. Результаты представлены в таблице 20.

**Таблица 20.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A* в зависимости от наличия/отсутствия клинических симптомов в группе женщин с эндометриозом

Полиморфизм C(+936)T (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i>	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие симптома	Отсутствие симптома	$\chi^2$ , p
Дисменорея	Распределение частот генотипов (%):	(n=66)	(n=19)	$\chi^2=1,30$ , P=0,25 $\chi^2=1,05$ , P=0,31 $\chi^2=0,29$ , P=0,59
	СС	65,2	78,9	
СТ	33,3	21,2		
	ТТ	1,5	0	
	Распределение частот аллелей (%):			$\chi^2=1,26$ , P=0,26
	С	81,8	89,5	
	Т	18,2	10,5	
Диспареуния	Распределение частот генотипов (%):	(n=34)	(n=51)	$\chi^2=1,77$ , P=0,183 $\chi^2=1,33$ , P=0,25 $\chi^2=0,41$ , P=0,41
	СС	76,5	62,7	
	СТ	23,5	35,3	
	ТТ	0	2,0	

	Распределение частот аллелей (%):			
	С	88,2	80,4	$\chi^2=1,82, P=0,18$
	Т	11,8	19,6	
Дисхезия	Распределение частот генотипов (%):	(n=14)	(n=71)	$\chi^2=0,83, P=0,363$
	СС	78,6	66,2	
	СТ	21,4	32,4	$\chi^2=0,66, P=0,42$
	ТТ	0	1,4	$\chi^2=0,20, P=0,66$
	Распределение частот аллелей (%):			
	С	89,3	82,4	$\chi^2=0,81, P=0,37$
	Т	10,7	17,6	

Примечание: \*-p <0,05

### 3.3.5. Взаимосвязь полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* с формами эндометриоза

Для исследуемых полиморфных вариантов генов частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга внутри исследуемой группы пациенток в зависимости от формы эндометриоза ( $p>0,05$ ).

При исследовании ассоциации форм эндометриоза с полиморфизмом С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* в группе пациенток с эндометриозом, статистически значимых различий выявлено не было. Результаты представлены в таблице 21.

**Таблица 21.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A* в зависимости от форм эндометриоза

Полиморфизм C(+936)T (rs3025039) гена <i>VEGF-A</i>	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие формы	Отсутствии е формы	$\chi^2$ , p
Эндометриоз яичников	Распределение частот генотипов (%): ТТ ТС СС	(n=73) 69,9 28,8 1,4	(n=12) 58,3 41,7 0	$\chi^2=0,63$ , P=0,427 $\chi^2=0,81$ , P=0,37 $\chi^2=0,21$ , P=0,68
	Распределение частот аллелей (%): Т С	84,2 15,8	79,2 20,8	$\chi^2=0,39$ , P=0,53
Инфильтративный эндометриоз	Распределение частот генотипов (%): ТТ ТС СС	(n=72) 68,1 30,6 1,4	(n=13) 69,2 30,8 0	$\chi^2=0,01$ , P=0,933 $\chi^2=0,00$ , P=0,99 $\chi^2=0,18$ , P=0,67
	Распределение частот аллелей (%): Т С	83,3 16,7	84,6 15,4	$\chi^2=0,03$ , P=0,87

Примечание: \*-p <0,05

### 3.4. Исследование однонуклеотидных полиморфизмов гена *MUC2*

#### 3.4.1. Однонуклеотидный полиморфизм C(-15161)T (rs10902088) гена *MUC2*

##### 3.4.1.1. Взаимосвязь полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена *MUC2* с риском развития эндометриоза

При генотипировании полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена *MUC2* выявлено соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга среди группы сравнения ( $\chi^2=0,01$ ,  $p=1,0$ ), в группе генитального эндометриоза ( $\chi^2=0,02$ ,  $p=0,64$ ). Результаты представлены в таблице 22.

**Таблица 22.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена *MUC2* в исследуемых группах

Полиморфизм C(-15161)T (rs10902088) гена <i>MUC2</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	CC	CT	TT	C	T
Группа сравнения (n=79)	82,3	15,2	2,5	89,9	10,1
Пациентки с генитальным эндометриозом (n=85)	69,4	24,7	5,9	81,8	18,2
	p=0,06 $\chi^2=3,68$	p=0,13 $\chi^2=2,31$	p=0,29 $\chi^2=1,13$	p=0,036* $\chi^2=4,39$	

Примечание: \*-  $p < 0,05$

В ходе проведенного исследования выявлена ассоциация аллеля T полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена *MUC2* с повышенным риском развития генитального эндометриоза (OR=1,98, 95%CI: 1,53 – 2,58,  $p=0,036$ ).

### 3.4.1.2. Взаимосвязь полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена *MUC2* с хроническим эндометритом у пациенток с эндометриозом

Как в группе пациенток с пролиферативным эндометрием ( $\chi^2=0,87$ ,  $p=0,67$ ), так и в группе пациенток с хроническим эндометритом ( $\chi^2=3,72$ ,  $p=1,0$ ), распределение частот аллелей и генотипов C(-15161)T (rs10902088), гена *MUC2* соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Результаты представлены в таблице 23.

**Таблица 23.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма C(-15161)T (rs10902088), гена *MUC2* в исследуемых группах

Полиморфизм C(-15161)T (rs10902088), гена <i>MUC2</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	CC	CT	TT	C	T
Пролиферативный эндометрий (n=11 )	72,7	27,3	0	86,4	13,6
Хронический эндометрит (n= 74)	68,9	24,3	6,8	81,1	19,9
	p=0,80 $\chi^2=0,07$	p=0,83 $\chi^2=0,04$	p=0,37 $\chi^2=40,79$	p=0,55 $\chi^2=0,36$	

Примечание:  $p < 0,05$

В ходе проведенного исследования взаимосвязи полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена *MUC2* с хроническим эндометритом выявлено не было.

### 3.4.1.3. Взаимосвязь полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена *MUC2* с клиническими симптомами у женщин с эндометриозом

Для исследуемых полиморфных вариантов генов частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга внутри группы пациенток с эндометриозом в зависимости от выявления конкретных клинических

симптомов ( $p > 0,05$ ). При исследовании ассоциации клинических симптомов эндометриоза с полиморфизмом C(-15161)T (rs10902088), гена *MUC2* в группе пациенток с эндометриозом, статистически значимых различий выявлено не было. Результаты представлены в таблице 24.

**Таблица 24.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма C(-15161)T (rs10902088) гена *MUC2* в зависимости от наличия/отсутствия клинических симптомов в группе женщин с эндометриозом.

Полиморфизм C(-15161)T (rs10902088) гена <i>MUC2</i>	спределение частот генотипов и аллелей	Наличие симптома	Отсутствие симптома	$\chi^2$ , p
Дисменорея	Распределение частот генотипов (%):	(n=66)	(n=19)	
	СС	72,7	57,9	$\chi^2=1,53$ , P=0,22
	СТ	22,7	31,6	$\chi^2=0,62$ , P=0,43
	ТТ	4,5	10,5	$\chi^2=0,95$ , P=0,33
	Распределение частот аллелей (%):			
	С	84,1	73,7	
	Т	15,9	26,3	$\chi^2=2,14$ , P=0,14
Диспареуния	Распределение частот генотипов (%):	(n=34)	(n=51)	
	СС	76,5	64,7	$\chi^2=1,33$ , P=0,249
	СТ	20,6	27,5	$\chi^2=0,52$ , P=0,47
	ТТ	2,9	7,8	$\chi^2=0,89$ , P=0,35
	Распределение частот аллелей (%):			
	С	86,8	78,4	
	Т	13,2	21,6	$\chi^2=1,9$ , P=0,17

Дисхезия	Распределение частот генотипов (%):	(n=14)	(n=71)	$\chi^2=0,66$ , P=0,416
	СС	78,6	67,6	
	СТ	14,3	26,8	$\chi^2=0,98$ , P=0,32
	ТТ	7,1	5,6	$\chi^2=0,05$ , P=0,83
	Распределение частот аллелей (%):			
	С	85,7	81,0	
	Т	14,3	19,0	$\chi^2=0,35$ , P=0,55

Примечание: \*-p <0,05

#### 3.4.1.4. Взаимосвязь полиморфизма С(-15161)Т (rs10902088) гена *MUC2* с формами эндометриоза

Для исследуемых полиморфных вариантов генов частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга внутри исследуемой группы пациенток от форм эндометриоза (p>0,05). При исследовании ассоциации форм эндометриоза с полиморфизмом С(-15161)Т (rs10902088), гена *MUC2* статистически значимых различий выявлено не было. Результаты представлены в таблице 25.

**Таблица 25.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма С(-15161)Т (rs10902088) гена *MUC2* в зависимости от форм эндометриоза.

Полиморфизм С(-15161)Т (rs10902088) гена <i>MUC2</i>	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие формы	Отсутствие формы	$\chi^2$ , p
Эндометриоз яичников	Распределение частот генотипов (%):	(n=73)	(n=12)	
	СС	67,2	83,3	$\chi^2=1,28$ , P=0,259
	СТ	26,0	16,7	$\chi^2=0,49$ , P=0,49
	ТТ	6,8	0,0	$\chi^2=0,87$ , P=0,35



	Распределение частот аллелей (%):			
	С	80,1	91,7	
	Т	19,9	8,3	$\chi^2=1,84, P=0,18$
Инфильтративный эндометриоз	Распределение частот генотипов (%):	(n=72)	(n=13)	
	СС	69,4	69,2	$\chi^2=0,00, P=0,988$
	СТ	23,6	30,8	$\chi^2=0,30, P=0,58$
	ТТ	6,9	0	$\chi^2=0,96, P=0,33$
	Распределение частот аллелей (%):			
	С	81,3	84,6	
	Т	18,8	15,4	$\chi^2=0,17, P=0,68$

Примечание: \*-p <0,05

### 3.5. Однонуклеотидный полиморфизм Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2*

#### 3.5.1. Взаимосвязь полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* с риском развития эндометриоза

Равновесию Харди–Вайнберга соответствовало распределение частот генотипов полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* при генитальном эндометриозе ( $\chi^2=0,037, p=0,85$ ) и в группе женщин без эндометриоза ( $\chi^2=3,44, p=0,063$ ). Результаты представлены в таблице 26.

**Таблица 26.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* в исследуемых группах

Полиморфизм Т(-12150)С (rs10794288) гена <i>MUC2</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Группа сравнения (n=79)	10,1	26,6	63,3	23,4	76,6
Пациентки с генитальным эндометриозом (n=85)	1,2	21,2	77,6	11,8	88,2
	p=0,03* $\chi^2=4,7$	p=0,53 $\chi^2=0,40$	p=0,065 $\chi^2=3,41$	p=0,07 $\chi^2=3,29$	

Примечание: \*-p <0,05

Выявлена ассоциация генотипа СС полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* с низким риском развития генитального эндометриоза (OR=0,11, 95%CI: 0,013–0,865, p=0,03).

### 3.5.2. Взаимосвязь полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* с хроническим эндометритом у пациенток с эндометриозом

Анализ полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* показал соответствие равновесию Харди–Вайнберга распределения частот аллелей и генотипов в группах пролиферативного эндометрия ( $\chi^2=2,21$ , p=0,1) и хронического эндометрита ( $\chi^2=1,17$ , p=0,69). Результаты представлены в таблице 27.

**Таблица 27.** Частоты (%) аллелей и генотипов Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* в исследуемых группах

Полиморфизм Т(-12150)С (rs10794288) гена <i>MUC2</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	ТТ	ТС	СС	Т	С
Пролиферативный эндометрий (n=11 )	72,7	27,3	0	86,35	13,65
Хронический эндометрит (n= 74)	78,4	20,3	1,4	88,45	11,55
	p=0,68 $\chi^2=0,18$	p=0,06 $\chi^2=0,28$	p=0,70 $\chi^2=0,4415$	p=0,067 $\chi^2=3,1$	

Примечание: p <0,05

В ходе проведенного исследования взаимосвязи полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* с хроническим эндометритом выявлено не было.

### 3.5.3. Взаимосвязь полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* с клиническими симптомами у женщин с эндометриозом

Для исследуемого полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга внутри группы пациенток с эндометриозом в зависимости от выявления конкретных клинических симптомов ( $p > 0,05$ ). Результаты представлены в таблице 28.

**Таблица 28.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма С Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* в зависимости от наличия/отсутствия клинических симптомов в группе женщин с эндометриозом

Полиморфизм Т (-12150)С (rs10794288) гена <i>MUC2</i>	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие симптома	Отсутствие симптома	$\chi^2$ , p
Дисменорея	Распределение частот генотипов (%):	(n=66)	(n=19)	
	ТТ	78,8	73,7	$\chi^2=0,22$ , P=0,64
	ТС	19,7	26,3	$\chi^2=0,39$ , P=0,53
	СС	1,5	0	$\chi^2=0,29$ , P=0,59
Диспареуния	Распределение частот аллелей (%):			
	Т	88,6	86,8	
	С	11,4	13,2	$\chi^2=0,09$ , P=0,76
	Распределение частот генотипов (%):	(n=34)	(n=51)	
Диспареуния	ТТ	91,2	68,6	$\chi^2=5,98$ , P=0,015*
	ТС	8,8	29,4	$\chi^2=5,18$ , P=0,02*
	СС	0	2,0	$\chi^2=0,67$ , P=0,41
	Распределение частот аллелей (%):			
Диспареуния	Т	95,6	83,3	$\chi^2=5,90$ , P=0,015*
	С	4,4	16,7	

Полиморфизм Т (-12150)С (rs10794288) гена <i>MUC2</i>	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие симптома	Отсутствие симптома	$\chi^2$ , p
Дисхезия	Распределение частот генотипов (%):	(n=14)	(n=71)	
	ТТ	92,9	74,6	$\chi^2=2,23$ , P=0,135
	ТС	7,1	23,9	$\chi^2=1,98$ , P=0,16
	СС	0	1,4	$\chi^2=0,20$ , P=0,655
	Распределение частот аллелей (%):			
Т	96,4	86,6		
С	3,6	13,4	$\chi^2=2,17$ , P=0,14	

Примечание: \*-p <0,05

В ходе исследования выявлена ассоциация генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* с повышенным риском появлением диспареунии у женщин с эндометриозом (OR=4,72 (1,26-17,76) и (OR=4,33 (1,22-15,42)), а так же наличие генотипа ТС полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* ассоциировано с пониженным риском развития диспареунии у женщин с эндометриозом (OR=0,23 (0,06-0,87)).

#### 3.5.4. Взаимосвязь полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* с формами эндометриоза

Для исследуемого полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга внутри исследуемой группы пациенток в зависимости от форм эндометриоза (p>0,05). При исследовании ассоциации форм эндометриоза с полиморфизмом Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* статистически значимых различий выявлено не было. Результаты представлены в таблице 29.

**Таблица 29.** Распределение частот (%) аллелей и генотипов полиморфизма С Т(-12150)С (rs10794288) гена MUC2 в зависимости от форм эндометриоза

Полиморфизм Т(-12150)С (rs10794288) гена MUC2	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие формы	Отсутствие формы	$\chi^2$ , p
Эндометриоз яичников	Распределение частот генотипов (%):	(n=73)	(n=12)	
	ТТ	78,1	75,0	$\chi^2=0,06$ , P=0,812
	ТС	20,5	25,0	$\chi^2=0,12$ , P=0,73
	СС	1,4	0	$\chi^2=0,17$ , P=0,68
	Распределение частот аллелей (%):			
	Т	88,4	87,5	
	С	11,6	12,5	$\chi^2=0,90$ , P=0,01
Инфильтративный эндометриоз	Распределение частот генотипов (%):	(n=72)	(n=13)	
	ТТ	77,8	76,9	$\chi^2=0,00$ , P=0,946
	ТС	20,8	23,1	$\chi^2=0,03$ , P=0,86
	СС	1,4	0,0	$\chi^2=0,18$ , P=0,67
	Распределение частот аллелей (%):			
	Т	88,2	88,5	
	С	11,8	11,5	$\chi^2=0,00$ , P=0,97

Примечание: \*-p <0,05

### 3.6. Исследование однонуклеотидных полиморфизмов гена CYP11B2

#### 3.6.1. Взаимосвязь полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена CYP11B2 с риском развития генитального эндометриоза

В группе сравнения и при генитальном эндометриозе выявлено соответствие распределения частот генотипов полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена CYP11B2 равновесию Харди–Вайнберга ( $\chi^2=0,06$ , p=0,81 и  $\chi^2=0,21$ , p=0,65, соответственно). Результаты представлены в таблице 30.

**Таблица 30.** Частоты (%) аллелей и генотипов C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* в исследуемых группах

Полиморфизм C(-344)T (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Группа сравнения (n=79)	59,5	27,8	12,6	73,4	26,6
Пациентки с генитальным эндометриозом (n=85)	21,2	41,2	37,6	41,8	58,2
	p=0,001 $\chi^2=25,13$	p=0,07 $\chi^2=3,21$	p=0,01 $\chi^2=13,42$	p=0,49 $\chi^2=2,41$	

Примечание:  $p < 0,05$

По результатам проведенного анализа установлена ассоциация генотипа СС (OR=0,18, 95%CI: 0,09–0,36,  $p < 0,001$ ) полиморфизма C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* с пониженным риском развития эндометриоза, также ассоциация генотипа ТТ (OR=4,16, 95%CI: 1,88-9,23,  $p < 0,001$ ) полиморфизма C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* с повышенным риском развития генитального эндометриоза.

### **3.6.2. Взаимосвязь полиморфизма C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* с хроническим эндометритом при генитальном эндометриозе**

Анализ полиморфизма C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* показал, что распределение частот аллелей и генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга, как у пациенток с пролиферативным эндометрием ( $\chi^2=2,46$ ,  $p=0,055$ ), так и при хроническом эндометрите ( $\chi^2=1,78$ ,  $p=0,36$ ). Результаты представлены в таблице 31.

**Таблица 31.** Частоты (%) аллелей и генотипов С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* в исследуемых группах

Полиморфизм С(-344)Т (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i>	Распределение частот генотипов			Распределение частот аллелей	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Пролиферативный эндометрий (n= 11)	18,2	63,6	18,2	50	50
Хронический эндометрит (n= 74)	21,6	37,8	40,5	40,5	59,5
	p=0,79 $\chi^2=0,07$	p=0,10 $\chi^2=2,63$	p=0,15 $\chi^2=2,04$	p=0,40 $\chi^2=0,70$	

Примечание: p <0,05

В ходе проведенного исследования взаимосвязи полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* с хроническим эндометритом выявлено не было.

### **3.6.3. Взаимосвязь полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* с клиническими симптомами у женщин с эндометриозом**

Для исследуемого полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга внутри группы пациенток с эндометриозом в зависимости от выявления конкретных клинических симптомов (p>0,05). Результаты представлены в таблице 32.

**Таблица 32.** Частоты (%) аллелей и генотипов С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* в зависимости от наличия/отсутствия клинических симптомов в группе женщин с эндометриозом

Полиморфизм С(-344)Т (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i>	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие симптома	Отсутствие симптома	$\chi^2$ , p
Дисменорея	Распределение частот генотипов (%):	(n=66)	(n=19)	
	СС	21,2	21,1	$\chi^2=0,01$ , P=0,25
	СТ	43,9	31,6	$\chi^2=0,93$ , P=0,33
	ТТ	34,8	47,4	$\chi^2=0,99$ , P=0,32
Диспареуния	Распределение частот аллелей (%):			
	С	43,2	36,8	
	Т	56,8	63,2	$\chi^2=0,49$ , P=0,49
	Распределение частот генотипов (%):	(n=34)	(n=51)	
Дисхезия	Распределение частот генотипов (%):			
	СС	14,7	25,5	$\chi^2=1,42$ , P=0,233
	СТ	47,1	37,3	$\chi^2=0,81$ , P=0,37
	ТТ	38,2	37,3	$\chi^2=0,01$ , P=0,93
Дисхезия	Распределение частот аллелей (%):			
	С	38,2	44,1	
	Т	61,8	55,9	$\chi^2=0,58$ , P=0,45
	Распределение частот генотипов (%):	(n=14)	(n=71)	
Дисхезия	Распределение частот генотипов (%):			
	СС	42,9	16,9	$\chi^2=4,72$ , P=0,03*
	СТ	35,7	42,2	$\chi^2=0,21$ , P=0,65
	ТТ	21,4	40,8	$\chi^2=1,88$ , P=0,17
Дисхезия	Распределение частот аллелей (%):			
	С	60,7	38	$\chi^2=4,95$ , P=0,026*
	Т	39,3	62	

Примечание: \*-p <0,05



В ходе исследования была установлена ассоциация генотипа СС и аллеля С полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* с повышенным риском появлением дисхезии у женщин с эндометриозом: OR=3,68 (1,08-12,579) и (OR=2,52 (1,10-5,78).

### 3.6.4. Взаимосвязь полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* с формами эндометриоза

Для исследуемого полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* частоты генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга внутри группы пациенток с эндометриозом в зависимости от выявления конкретных форм заболевания ( $p > 0,05$ ). При исследовании ассоциации форм эндометриоза с полиморфизмом С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* статистически значимых различий выявлено не было. Результаты представлены в таблице 33.

**Таблица 33.** Частоты (%) аллелей и генотипов С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* в зависимости от форм эндометриоза

Полиморфизм С(-344)Т (rs1799998) гена <i>CYP11B2</i>	Распределение частот генотипов и аллелей	Наличие формы	Отсутствие формы	$\chi^2$ , p
Эндометриоз яичников	Распределение частот генотипов (%): СС СТ ТТ	(n=73) 20,5 42,5 37,0	(n=12) 25,0 33,3 41,7	$\chi^2=0,12$ , P=0,358 $\chi^2=0,35$ , P=0,41 $\chi^2=0,10$ , P=0,95

	Распределение частот аллелей (%): С Т	41,0 59,0	46,2 53,8	$\chi^2=0,24,$ P=0,62
Инфильтративный эндометриоз	Распределение частот генотипов (%): СС СТ ТТ	(n=72) 19,4 43,1 37,5	(n=13) 30,8 30,8 38,5	$\chi^2=0,85,$ P=0,358 $\chi^2=0,69,$ P=0,41 $\chi^2=0,00,$ P=0,95
	Распределение частот аллелей (%): С Т	41,0 59,0	46,2 53,8	$\chi^2=0,24,$ P=0,62

Примечание: \*-p <0,05

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Эндометриоз является значимой проблемой современной медицины, так как влияет на социальную жизнь женщины, вызывая мощный болевой синдром, анемию, бесплодие и др. [49, 72, 75]. Более 100 лет учёные по всему миру изучают различные патогенетические аспекты развития эндометриоза. В настоящее время остаются неизвестными факторы, определяющие выживание и дальнейшую имплантацию мигрирующего эндометрия.

Изучение роли иммунной системы в развитии эндометриоза позволило установить, что «для внедрения и дальнейшего развития элементов эндометрия на брюшине и / или других структурах малого таза, необходимо наличие не только живых клеток», но и факторов, способствующих существованию эндометриоидных очагов. Один из таких факторов - высокий уровень пролиферативной активности эндометрия. Патогенез наружного генитального эндометриоза связан с особенностями стероидогенеза в яичниках и зависит от активности антипролиферативных факторов иммунной системы. Снижение способности натуральных киллеров элиминировать эктопический эндометрий в брюшной полости, связано с патологическим влиянием эстрогенов, что является важным моментом в развитии наружного генитального эндометриоза [95, 124, 152].

Вместе с тем, наличие в брюшной полости эктопического эндометрия, как хронического антигенного стимулятора, способно приводить к истощению резервных возможностей иммунной системы [28, 79]. При эндометриозе наблюдается поликлональная клеточная активация, повышенная продукция аутоантител, активация реакций гиперчувствительности замедленного типа, расстройства продукции цитокинов [2]. Обязательным компонентом является отек и клеточная инфильтрация стромы, в ответ на гиперпродукцию простагландинов. У больных с эндометриозом и бесплодием выявляются признаки резкого нарушения иммунологического гомеостаза, которые проявляются дефицитом

T- и B-клеточного звена, повышением IgA, IgG, снижением лизоцима в цервикальной слизи, в фолликулярной и перитонеальной жидкостях [10]. Воспалительная реакция, развивающаяся в брюшной полости в ответ на присутствие эндометриоидных имплантатов, характеризуется увеличением объема перитонеальной жидкости, ростом количества лейкоцитов и активированных макрофагов, продуцирующих IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  и другие цитокины, нарушением процессов распознавания и элиминации антигенов (снижением активности перитонеальных B-лимфоцитов, снижением функции NK-клеток и T-лимфоцитов), что формирует условия для выживания и имплантации эктопических клеток эндометрия [19, 157]. Существенную роль в патогенезе эндометриоза играют матриксные металлопротеиназы, простагландины, цитохромы P и P17 $\alpha$ , фактор роста эндотелия сосудов и др. [134].

Установлено, что среди пациенток, страдающих эндометриозом, фертильными остаются не более 20%, также выявлена корреляция бесплодия с возрастом женщин. Спонтанное снижение фертильности у женщин с эндометриозом может быть связано с различными механизмами [96]. Механические деформации органов малого таза при тяжелой степени заболевания, обусловленные спаечным процессом, приводят к окклюзии фаллопиевых труб, однако на ранних стадиях причинами бесплодия могут послужить хроническое внутрибрюшинное воспаление и нарушение фолликулогенеза, за счет резистентности к прогестерону в эндометрии [2].

Превентивные стратегии, новые методы нехирургической диагностики и таргетная терапия эндометриоза могут быть реальностью с дальнейшим прогрессом в понимании патогенеза этого заболевания.

Особенности взаимодействия между фрагментами менструального эндометрия и поверхностью брюшины остаются противоречивыми. Одно из исследований показало, что эпителиальные и стромальные клетки эндометрия могут проникать в интактный мезотелиум [125], тогда как в других работах есть данные, что адгезия менструальных фрагментов

происходит только при наличии местной травмы. На сегодняшний день эутопичный эндометрий считается основой происхождения большинства эндометриозидных поражений; важным этапом является исследование различий экспрессии генов и эпигенетических модификаций в эутопическом и эктопическом эндометрии, изучение специфических генов и их регуляции с помощью микроРНК и длинных некодирующих РНК [158].

Наибольший метаанализ был выполнен Sapkota и соавторами и охватывал 11 генеалогических наборов данных, общим объемом 17045 случаев эндометриоза и 191596 случаев контроля. Было идентифицировано пять новых локусов, которые существенно связаны с риском развития эндометриоза ( $P < 5 \times 10^{-8}$ ) и предусматривают введение генов в секреторные стероидные гормоны (названия: *FNI*, *CCDC170*, *ESR1*, *SYNE1* и *FSHB*). Условный анализ выделил пять сигналов вторичной ассоциации, в том числе два в локусе *ESR1*, в результате чего получено 19 независимых одиночных нуклеотидных полиморфизмов, прочно связанных с эндометриозом. Гены, расположенные ближе к локусам риска, указывают, что «при эндометриозе участвуют и активируются сигналы белков, адгезии и миграции клеток, ангиогенеза, воспалительных и метаболических путей». Анализы геномов позволяют определить значительное распределение генетических вариантов, лежащих в основе эндометриоза. В исследованиях, посвященных патогенезу эндометриоза, уделяют внимание феномену эпителиально-мезенхимальной трансформации (EMT). Важным этапом регенерации ткани является переход эпителиальных клеток в мезенхимальные, и, наоборот, мезенхимальных в эпителиальные. Этот феномен возникает при хроническом воспалении и повреждении тканей, что способствует усилению сигнала клеточного роста и пролиферации и лежит в основе процессов инвазии и метастазирования клеток эндометрия и развития гетеротопий вне полости матки. Эпителиально-мезенхимальная трансформация вызывает превращение эпителиальных клеток в фибробласты, увеличивается продукция коллагена, что в итоге способствует образованию фиброзной ткани [95, 158].

В ходе нашего исследования был проведён анализ полученных клинических и лабораторных данных 164 женщин репродуктивного возраста, из которых 85 пациенток были с гистологически подтвержденным диагнозом генитальный эндометриоз и 79 женщин, у которых в ходе лапароскопии эндометриоза выявлено не было (группа сравнения). Все женщины, принявшие участие в исследовании, были сопоставимы по возрасту и соматической патологии. Большинство пациенток с эндометриозом предъявляли жалобы на болевой синдром и диспареунию, что не противоречит данным литературы. Боль, связанная с эндометриозом, влияет не только на сексуальную жизнь женщины, но и ухудшает качество сна, вызывает тревогу и депрессию, и как следствие, снижает работоспособность и социальную активность женщины [7].

Однако отмечается немалый процент бессимптомных случаев течения эндометриоза, независимо от степени заболевания. Его огромная клиническая вариативность и техническая сложность точной диагностики на ранних стадиях, зачастую делают диагностику возможной при длительном течении заболевания, когда болезнь находится на поздней стадии [97].

Эндометриоз способствует развитию бесплодия за счет:

1. Развития спаечного процесса органов малого таза.
2. Поддержания воспалительного процесса органов малого таза.
3. Снижения овариального резерва, за счёт физического сдавления тканей яичника эндометриомой.
4. Снижения качества ооцитов и эмбриона.

Существует множество данных, свидетельствующих о низком качестве ооцитов у женщин с эндометриозом. В эксперименте, в ооцитах мышей, подвергнутых воздействию перитонеальной жидкости от женщин с эндометриозом, регистрировались смещения хромосом и aberrации веретена, [86]. Аналогично, при индукции эндометриоза у мышей, наблюдается снижение числа нормальных ооцитов, с более высоким процентом аномалий веретена и неполной экстрезией 1-го полярного тельца. Электронная

микроскопия позволила выявить аномальные структуры митохондрий, снижение митохондриальной массы и меньшее количество копий митохондриальной ДНК [116]. Аналогично, кумулюсные клетки женщин с эндометриозом производили значительно меньшее количество АТФ на общую ДНК, что может свидетельствовать о том, что снижение выработки энергии играет роль в снижении качества ооцитов [80].

Одна из причин, по которой эндометриоз влияет на фертильность, может заключаться в изменении рецептивности эндометрия и развитии воспаления эндометриальных клеток, что препятствует имплантации эмбриона. Ранние фундаментальные исследования выявили молекулярные различия в эндометрии женщин, страдающих эндометриозом: различия в транскриптомной сигнатуре выявили повышенную регуляцию генов, связанных с синтезом ДНК и клеточным митозом, что соответствовало бы хроническому прогрессирующему заболеванию; и подавление генов, связанных с ответом на прогестерон, что имеет смысл в контексте теории «устойчивости к прогестерону» [94].

#### **4.1. Анализ ассоциаций полиморфных вариантов С(-460)Т (rs833061), С(+936)Т (rs3025039) гена VEGF-A, С(-15161)Т (rs10902088) и Т(-12150)С (rs10794288) гена MUC2 и С(-344)Т (rs1799998) гена CYP11B2 с риском развития генитального эндометриоза и хронического эндометрита**

Из исследованных нами полиморфизмов генов *VEGF –A*, *MUC2*, *CYP11B2*, полиморфизмы С(-460)Т (rs833061), С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A*, Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2*, С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2*, были ассоциированы с риском развития генитального эндометриоза.

Исследование полиморфных вариантов гена *VEGF-A* выявило взаимосвязь генотипа ТТ полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* с пониженным риском развития генитального эндометриоза. Также генотип ТТ и аллель Т полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* были

ассоциированы с пониженным риском развития хронического эндометрита. Данный анализ позволяет предположить протективное влияние генотипа ТТ полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* на развитие эндометриоз-ассоциированного бесплодия.

Аллель С и генотип СС полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* был ассоциирован с повышенным, а генотип ТТ и аллель Т полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* - с пониженным риском развития генитального эндометриоза. Однако, взаимосвязи полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* с хроническим эндометритом выявлено не было.

В исследуемых группах была установлена ассоциация генотипа СС полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* с пониженным риском развития генитального эндометриоза. Как основная секретируемая форма муцинов, *MUC2* может воздействовать на окружающие ткани, влияя на фертильность, посредством нарушения секреции слизи и восприимчивости эндометрия. Также *MUC2* может способствовать инвазии или пролиферации клеток эндометрия [129, 140]. Однако, взаимосвязи полиморфизма Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2* с хроническим эндометритом установлено не было.

Также нами установлена ассоциация генотипа СС полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* с пониженным риском развития эндометриоза, и напротив, ассоциация генотипа ТТ полиморфизма С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2* с повышенным риском развития генитального эндометриоза и хронического эндометрита. Мутации в гене *CYP11B2*, кодирующего выработку ферментов цитохрома Р450, посредством дефицита кортикостеронметилоксидазы, влияют на стероидогенез [31, 33, 37, 77, 130], что подтверждает важность гормонального дисбаланса в патогенезе эндометриоза.

Таким образом проведенное исследование позволило выявить полиморфные варианты и мутации генов-предикторов эндометриоза и



хронического эндометрита. Поиск молекулярно-генетических аспектов развития генитального эндометриоза является важным шагом на пути к разработке новых методов диагностики развития генитального эндометриоза изолировано и в сочетании с хроническим эндометритом и персонафицированных подходов к патогенетической терапии этого заболевания.

**4.2. Анализ ассоциаций полиморфных вариантов C(-460)T (rs833061), C(+936)T (rs3025039) гена VEGF-A, C(-15161)T (rs10902088) и T(-12150)C (rs10794288) гена MUC2 и C(-344)T (rs1799998) гена CYP11B2 с риском развития клинических симптомов, связанных с эндометриозом и форм эндометриоза**

Из исследованных нами полиморфизмов генов *VEGF –A*, *MUC2*, *CYP11B2*, полиморфизмы T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* и C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* были ассоциированы с риском развития клинических симптомов у пациенток с эндометриозом.

Исследование полиморфных вариантов гена *MUC2* выявило взаимосвязь генотипа TT и аллеля T полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* с повышенным риском развития диспареунии у женщин с эндометриозом, а также генотипа TC полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* с пониженным риском развития диспареунии у женщин с эндометриозом. Установлена ассоциация генотипа CC и аллеля C полиморфизма C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* с повышенным риском развития дисхезии у женщин с эндометриозом.

Болевой синдром при эндометриозе обусловлен воспалительной реакцией на имплантацию и развитие эндометриоидной гетеротопии. В свою очередь гельобразующие муцины, вероятнее всего, защищают эктопичный эндометрий от иммунной системы организма. Имплантируясь, эндометриоидная гетеротопия поражает нервные окончания, а также провоцирует образование новых мелких немиелинизированных волокон [64,

112]. В процессе распространения очагов эндометриоза и вовлечения спаечным процессом близлежащих органов, пациентки, страдающие эндометриозом отмечают болевой синдром при коитусе и/или дефекации. При выраженном спаечном процессе формируется выраженная диспареуния за счет фиксации матки в ретропозиции с образованием рубцовых деформаций крестцово-маточных связок [113].

Гормональный дисбаланс необходим для формирования и прогрессирования эндометриоза, распространение которого способствует формированию воспаления и может влиять на моторику кишечника, вызывая дисхезию [39].

Из исследованных нами полиморфизмов генов *VEGF -A*, *MUC2*, *CYP11B2*, полиморфизм C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* было ассоциировано с повышенным риском образования эндометриоза яичников у женщин с эндометриозом

При исследовании ассоциации форм эндометриоза с полиморфизмов C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A*, C(-15161)T (rs10902088) и T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2*, C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* в группе пациенток с эндометриозом, статистически значимых различий выявлено не было.

Наличие генотипа CC и аллеля C полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* было ассоциировано с повышенным риском образования эндометриом у женщин с эндометриозом. Эндометриома – доброкачественное образование яичника, с тонкой капсулой и густым кровянистым содержимым. Капсула эндометриомы характеризуется отсутствием желез, содержимое в кисте накапливается путем менструальноподобной реакции эндометриоидной гетеротопии [2]. Имплантируясь в толщу яичника, эндометриоидная гетеротопия требует активного неоангиогенеза [91]. Таким образом, медиаторы ангиогенеза, в частности, VEGF, необходимы для роста и пролиферации участков пораженного эндометрия [91].

Таким образом проведенное исследование позволило выявить полиморфные варианты и мутации генов-предикторов эндометриом и формирования дисхезии и диспареунии при эндометриозе. Более глубокое понимание особенностей течения заболевания является важным шагом на пути к разработке новых методов диагностики и персонализированных подходов к патогенетической терапии.

#### **4.3. Выявление взаимосвязи полиморфных вариантов С(-460)Т (rs833061), С(+936)Т (rs3025039) гена VEGF-A с содержанием ангиогенного фактора VEGF-A в сыворотке крови**

Ткань эндометрия требует кровоснабжения для роста и пролиферации, которое обеспечивается посредством неоангиогенеза [91]. Ангиогенез, являясь важнейшим процессом формирования новых кровеносных сосудов, имеет важное значение не только для физиологических процессов, включая эмбриональное развитие и заживление ран, но и в патологических состояниях, включая хроническое воспаление, рак, болезни сердца и диабетическую ретинопатию и др. [92,159]. Он играет важную роль в стимуляции активности опухоли, включая ее рост, метастазирование и инвазию [123, 158].

Многочисленные факторы, включая гипоксию, цитокины и окислительный стресс приводят в повышенной проницаемости сосудистого эндотелия и выходу из сосудистого русла VEGF-A, который действуя на эндотелий, приводит к ослаблению концевых клеток (tip-cells), которые секретируют протеолитические ферменты, разрушая матрикс. Диффундируя в межклеточное пространство, концевые клетки активно пролиферируют, обеспечивая формирование капилляра [28, 92, 149, 161].

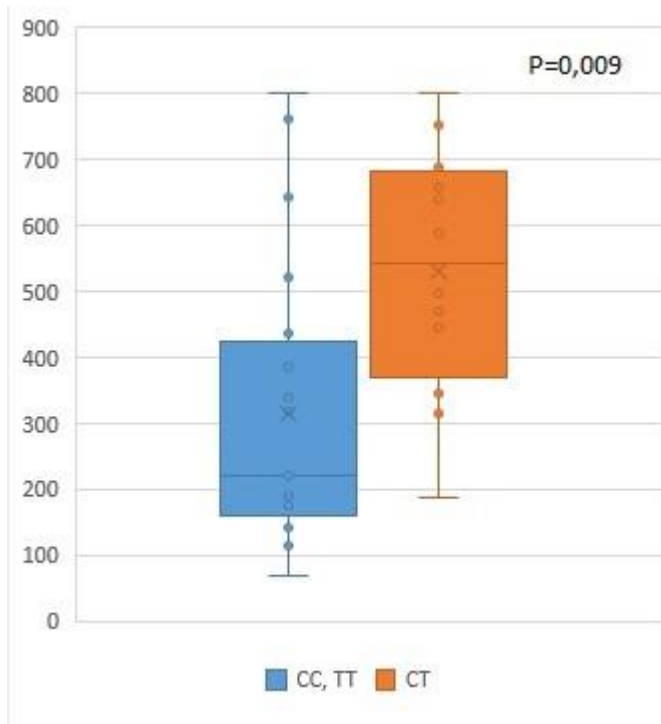
Высокие концентрации VEGF постоянно обнаруживаются в перитонеальной жидкости при эндометриозе, и, по-видимому, его уровень коррелирует со стадией заболевания [162].

Как уже упоминалось ранее, нами была выявлена взаимосвязь генотипа ТТ полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* с пониженным риском развития генитального эндометриоза, а генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма гена неангиогенеза *VEGF-A* С(-460)Т (rs833061) с пониженным риском развития хронического эндометрита. Полиморфизм С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* находились в неравновесном сцеплении в группах пациенток с эндометриозом и женщин без эндометриоза, что не оказывало влияния на содержание фактора VEGF-A в сыворотке крови.

Однако следует отметить, что среди пациенток с генитальным эндометриозом, уровень исследуемого цитокина по всем генотипам локуса С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* оказался значимо ниже такового, чем у женщин, вошедших в группу сравнения.

Аллель С и генотип СС полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* был ассоциирован с повышенным, а генотип ТТ и аллель Т полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* с пониженным риском развития генитального эндометриоза. При анализе распределения частот генотипов полиморфного сайта С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A* было выявлено, что в группе сравнения, при наличии гетерозиготного генотипа СТ, уровень цитокина VEGF – А был в 1,5 раза выше в сравнении с гомозиготными генотипами (рисунок 2).

Проведённый иммуноферментный анализ позволил выявить значимое снижение (в 2,5 раза) уровня ангиогенного цитокина VEGF-A в крови у всех пациенток, страдающих эндометриозом (независимо от степени тяжести заболевания), относительно значений группы женщин без эндометриоза (таблица № 9). Однако при проведении сравнительного анализа содержания VEGF-A в зависимости от степени тяжести эндометриоза, только у пациенток с IV стадией эндометриоза было отмечено достоверное снижение исследуемого фактора в 4,5 раза по сравнению с аналогичными показателями группы сравнения ( $p < 0,001$ ) (таблица № 10).



**Рисунок 1.** Содержание (пг/мл) VEGF-A в крови женщин группы сравнения с генотипами полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена VEGF-A

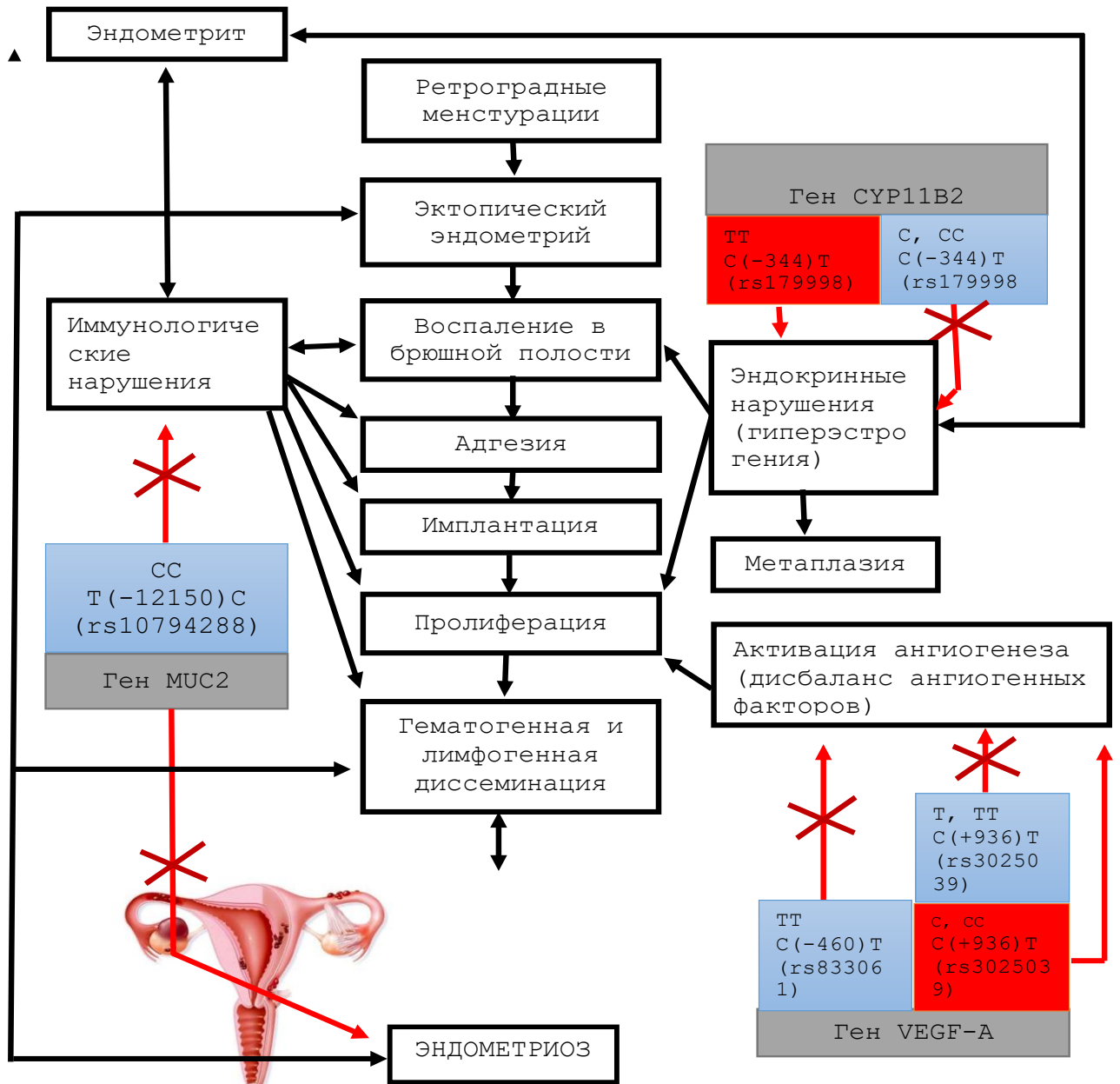
Роль факторов ангиогенеза в патогенезе пролиферативных заболеваний репродуктивной системы является неоспоримой [159]. Как было описано выше, наиболее значимым из известных факторов ангиогенеза является VEGF-A, способный не только инициировать митогенную активность и подавлять апоптоз эндотелиальных клеток, но и повышать перфузию сосудов (что изначально было определено как основной механизм его действия) [123, 158]. Местная гиперэстрогения сопровождается повышением уровня VEGF-A в эндометриальных клетках и усилением процессов неоангиогенеза вокруг эндометриоидной гетеротопии. А также у пациенток с эндометриозом отмечается более высокий уровень VEGF-A в перитонеальной жидкости [159], который взаимосвязан со степенью тяжести эндометриоза. VEGF-A посредством неоангиогенеза способствует имплантации эктопического эндометрия [71, 159].

*VEGF-A*, кодируется геном на хромосоме 6p12, который включает кодирующую область размером 14 тысяч пар нуклеотидов из восьми экзонов и демонстрирует альтернативный сплайсинг с образованием семейства

белков. Путем активации и образования связей с мембранными тирозинкиназными рецепторами (рецептором-1 VEGF и рецептором-2 VEGF) *VEGF-A* влияет на формирование и пролиферацию новых кровеносных сосудов. В 3'-нетранслируемом регионе гена полиморфная позиция в положении C(+936)T влияет на уровень *-A* в сыворотке крови [58]. По данным литературы полиморфизм промоторного региона гена неангиогенеза *VEGF-A* в позиции +405G/C (rs2010963) ассоциирован с повышением выработки *VEGF-A* стимулированными мононуклеарными фагоцитами крови [108]. В ходе изучения зарубежной литературы однозначных сведений об ассоциации полиморфизма G(-405)C гена *VEGF* с риском развития генитального эндометриоза обнаружено не было, напротив, сообщались как опровергающие [111], так и подтверждающие взаимосвязь исследования [159].

Поскольку генетические полиморфизмы часто различаются среди этнических групп, столь вариабельные результаты влияния SNP на развитие эндометриоза в разных популяциях могут быть ассоциированы с различным генетическим фоном. Проведенное нами исследование уточнило, что аллель С и генотип СС полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A* повышают риск формирования эндометриоза у женщин славянской популяции Северо-Западного федерального округа; выявленные нами факторы могут быть рассмотрены в качестве маркеров развития заболевания. При наличии генотипа ТТ полиморфизма C(-460)T (rs833061), генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A*, вероятность формирования эндометриоза, наоборот, снижается. Как уже упоминалось ранее, неангиогенез создает благоприятные условия для выживания и пролиферации эктопического эндометрия, которая невозможна без усиленной продукции факторов ангиогенеза посредством гиперэстрогении [58, 127]. Выявленные нами полиморфные варианты гена неангиогенеза *VEGF-A* (полиморфизм C(+936)T (rs3025039), полиморфизм C(-460)T (rs833061)), ассоциированные с генитальным эндометриозом, вероятно, способствуют

усилению образования фактора роста эндотелия сосудов, а также инициации ангиогенеза при эндометриозе. Способствуя имплантации эндометриоидной гетеротопии активный неоангиогенез предрасполагает развитию дисменореи [158]. С другой стороны, статистически достоверное повышение частот генотипов полиморфизма гена фермента метаболизма андрогенов C(-344)T (rs1799998) *CYP11B2* у женщин с эндометриозом, вероятно, опосредует дисбаланс ароматации тестостерона, что способствует развитию гиперэстрогении, которая необходима для развития и прогрессирования генитального эндометриоза. В свою очередь, ассоциация полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* с генитальным эндометриозом, объясняет защитные механизмы эктопичного эндометрия в отношении окружающей микросреды брюшной полости. Вышеописанные данные позволяют определить влияние молекулярно-генетических особенностей, обуславливающих иммунологические и гормональные нарушения, на развитие эндометриоза (рисунок 2).



**Рисунок 2.** Схема, отражающая вклад полиморфных вариантов генов неоангиогенеза VEGF-A, гелеобразующего муцина MUC2 и фермента метаболизма андрогенов CYP11B2 в развитие генитального эндометриоза и особенностей его течения

**Обозначения:**

↑ - по данным собственного исследования    ↑ - по данным литературы

■ - пониженный риск развития эндометриоза

■ - повышенный риск развития эндометриоза



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами изучены аллельные варианты полиморфизмов генов неоангиогенеза (C(-460)T (rs833061), C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A*), гельобразующих муцинов (T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2*), а также генов метаболизма андрогенов (C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2*), способствующих развитию гиперэстрогении, оценен уровень фактора ангиогенеза (*VEGF –A*) в крови, а также его взаимосвязь со степенью тяжести генитального эндометриоза (рисунок 2).

В ходе работы был установлен вклад полиморфных вариантов генов *VEGF–A*, *MUC2*, *CYP11B2* в риск развития генитального эндометриоза. Полиморфизмы генов неоангиогенеза *VEGF-A* C(-460)T (rs833061), C(+936)T (rs3025039), гельобразующих муцинов *MUC2* T(-12150)C (rs10794288), ферментов метаболизма андрогенов *CYP11B2* C(-344)T (rs1799998) были ассоциированы с риском развития генитального эндометриоза.

Установлена ассоциация генотипа CC и аллеля C полиморфизма гена неоангиогенеза *VEGF-A* C(+936)T (rs3025039) и генотипа TT полиморфизма гена ферментов метаболизма андрогенов *CYP11B2* C(-344)T (rs1799998) с повышенным риском развития генитального эндометриоза (рисунок 2). Установлена ассоциация генотипа TT полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A*, генотипа TT и аллеля T полиморфизма C(+936)T (rs3025039) гена *VEGF-A*, генотипа CC полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2*, генотипа CC полиморфизма C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* с пониженным риском развития генитального эндометриоза

В ходе исследования выявлена прямая связь генотипа TT и аллеля T полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* с повышенным риском развития диспареунии у женщин с эндометриозом, а также генотипа TC полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* с пониженным риском развития диспареунии у женщин с эндометриозом. Установлена ассоциация генотипа CC и аллеля C полиморфизма C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* с повышенным риском развития дисхезии у женщин с эндометриозом. В ходе

исследования выявлена ассоциация генотипа СС и аллеля С полиморфизма С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A* с повышенным риском образования эндометриом у женщин с эндометриозом.

При анализе распределения частот генотипов полиморфного сайта С(+936)Т гена *VEGF-A* было выявлено, что в группе сравнения, при наличии гетерозиготного генотипа СТ, уровень цитокина VEGF-A был в 1,5 раза выше относительно гомозиготных генотипов. Проведённый иммуноферментный анализ у обследованных женщин показал снижение (в 2,5 раза) уровня ангиогенного цитокина VEGF-A в сыворотке крови у пациенток, страдающих эндометриозом в сравнении с группой пациенток без эндометриоза. Очевиден вклад изученных нами полиморфизмов генов в патогенез эндометриоза, однако, по отдельности, аллельные варианты генов неангиогенеза (С(-460)Т (rs833061) гена *VEGF-A*, генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма С(+936)Т (rs3025039) гена *VEGF-A*), ферментов метаболизма андрогенов (С(-344)Т (rs1799998) гена *CYP11B2*), гельобразующих муцинов (Т(-12150)С (rs10794288) гена *MUC2*), фактора ангиогенеза (VEGF-A) для оценки предрасположенности к эндометриозу, а также прогнозированию течения заболевания и его ответа на комбинированную терапию, недостаточны (рисунок 3). С целью большего понимания патогенетических особенностей течения эндометриоза и индивидуализации прогноза течения и эффективности терапии заболевания, необходим дополнительных анализ ассоциаций полиморфизмов вышеперечисленных генов и уровня фактора ангиогенеза. Резюмируя итоговые данные нашего исследования, необходимо отметить, что они позволяют определить генетическое детерминирование синтеза факторов неангиогенеза и стероидогенеза, а также модификацию гельобразующих муцинов, что вносит значимый вклад не только в патогенез эндометриоза, но и способствует развитию резистентности к заболеванию.

## ВЫВОДЫ

1. Частота встречаемости полиморфных вариантов генов ангиогенеза *VEGF-A* C(+936)T (rs3025039) (аллеля С и генотипов СС) и фермента метаболизма андрогенов *CYP11B2* C(-344)T (rs1799998) (генотипов ТТ) у женщин с генитальным эндометриозом выше, чем у женщин без эндометриоза.
2. Полиморфные варианты генов *VEGF-A* C(-460)T (rs833061) (генотип ТТ), C(+936)T (rs3025039) (аллель Т и генотип ТТ), *MUC2* T(-12150)C (rs10794288) (генотип СС) и *CYP11B2* C(-344)T (rs1799998) (генотип СС) являются протективными в отношении развития генитального эндометриоза.
3. Установлена прямая связь генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* с повышенным риском развития диспареунии у женщин с эндометриозом, а также генотипа ТС полиморфизма T(-12150)C (rs10794288) гена *MUC2* с пониженным риском развития диспареунии у женщин с эндометриозом. Генотип СС и аллель С полиморфизма C(-344)T (rs1799998) гена *CYP11B2* предрасполагают к развитию дисхезии у женщин с эндометриозом.
4. Генотип СС и аллель С полиморфизма C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* взаимосвязаны с образованием эндометриом у женщин с эндометриозом.
5. Выявлена положительная взаимосвязь генитального эндометриоза с хроническим эндометритом у пациенток Северо-Западного федерального округа России.
6. У пациенток с генитальным эндометриозом по всем генотипам локуса C(-460)T (rs833061) гена *VEGF-A* уровень фактора VEGF-A в крови, чем у женщин без эндометриоза.

**СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

АМК	Аномальное маточное кровотечение
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ИМТ	Индекс массы тела
ИФА	Иммуноферментный анализ
ММП	Матриксные металлопротеиназы
РНК	Рибонуклеиновая кислота
ЭДТА	Этилендиаминтетрауксусная кислота
СОХ	Циклооксигеназа
СУР	Цитохром
ЕСМ	Внеклеточный матрикс
ICAM	Молекула клеточной адгезии
Ig	Иммуноглобулин
IGF-I	Инсулиноподобный фактор роста I
IL	Интерлейкин
IFN- $\gamma$	Интерферон гамма
MUC	Муцин
NK	Естественный киллер
NF- $\kappa$ B	Нуклеарный фактор каппа В
PGP9.5	Protein gene product 9.5
R-AFS/ASRM	Американское общество фертильности (англ.-American Fertility Society)
sTNFR	Рецепторы фактора некроза опухоли
TGF	Трансформирующий фактор роста – $\beta$
TNF	Фактор некроза опухоли
VEGF	Фактор роста эндотелия сосудов

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аванесянц, А. С. Эндометриоз: классификация, диагностика и лечение (обзор литературы) / А. С. Аванесянц, Д. А. Карапетян, Р. З. Торчинова. - Текст: непосредственный // Молодой ученый. - 2019. - № 5 (243). - С. 38-39.
2. Адамян, Л.В. Биомаркеры эндометриоза — современные тенденции / Л.В. Адамян, Я.Б. Азнаурова // Проблемы репродукции. - 2018. - №1. - С.57-62.
3. Адамян, Л.В. Эндометриозы / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н. Андреева. – Москва : Медицина, 2006. – 416 с.
4. Актуальные вопросы диагностики глубокого инфильтративного эндометриоза / С.В. Баринаова, О.В. Лазарева, Ю.Т. Игнатъев, В.Л. Полуэктов, С.И. Мозговой, В.В. Полуэктов, Л.Л. Шкабарня, Ю.И. Тирская. Текст: непосредственный // Мать и дитя в Кузбассе. – 2020. – № 1 (80). – С. 10-17.
5. Баранов, В.С. Критические периоды развития эндометриоза. – Текст: непосредственный // Экологическая генетика. – 2018. – №16(2). – С. 36-39.
6. Баранов, В.С. Новое в патогенетике мультифакторных заболеваний на примере главных акушерских синдромов: эндометриоза, миомы матки и гестоза. – Текст: непосредственный // Патогенез. – 2017. – № 15(3). – С.4-11.
7. Баскаков, В. П. Эндометриоидная болезнь: монография / В.П. Баскаков, Ю.В. Цвелев, Е.Ф. Кира. / Санкт-Петербург: Издательство Н-Л; – 2002. - ISBN 5-94869-001-6 – Текст: непосредственный
8. Биомаркеры эндометриоза: проблемы и возможности ранней диагностики рецидивов заболевания (обзор литературы) / Н.А. Межлумова, М.Ю. Бобров, Л.В. Адамян Л.В. – Текст: непосредственный // Проблемы репродукции. – 2018. – № 24(6). – С. 139-148.
9. Возможности и перспективы консервативной терапии эндометриоза как хронического прогрессирующего заболевания (обзор литературы) / Т.Ю. Пестрикова, Е.А. Юрасова, И.В. Юрасов. –Текст: непосредственный // Гинекология. – 2020. – № 22(1). – С.14-18.

10. Гончарова, М.А. Генитальный эндометриоз: основные направления диагностики и лечения: Научное обозрение / М.А. Гончарова, Ю.А. Петров, Н.Н. Кислякова. – Текст: непосредственный // Медицинские науки. – 2020. – № 2. – С. 5-9.
11. Давыдов, А.И. Эндометриоз яичников: форма генитального эндометриоза или отдельная нозологическая единица? / Л.М. Михалева, М.Б. Таирова, О.И. Пацап. Текст: непосредственный // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – № 18(5). – С. 5-12.
12. Дамиров, М. М. Генитальный эндометриоз - болезнь активных и деловых женщин: монография / М.М. Дамиров - Москва: Изд-во БИНОМ, 2010. ISBN: 5951804132 – Текст: непосредственный.
13. Игенбаева, Е.В. Эндометриоз - вопросы прежние... / Е.В. Игенбаева, Т.В. Узлова, Е.Л. Куренков. – Текст: непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 58.
14. Изучение эффективности индол-3-карбинола на модели эндометриоза у крыс (экспериментальное исследование) / В.И. Киселев, Л.А. Ашрафян, С.М. Пронин, Е.В. Герфанова, И.Н. Кузнецов, В.М. Друх, В.В. Удут, А.А. Чурин, О.И. Пчелинцева. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2020. – № 5. – С. 122-30.
15. Ищенко, А.И. Эндометриоз: диагностика и лечение: учебное пособие / А.И. Ищенко, Е.А. Кудрина. Москва: ГЭОТАР-МЕД; 2002. – 23-50 с – ISBN 5-9231-0202-1 – Текст: непосредственный.
16. Классификация эндометриоза / Э.К. Айламазян, М.И. Ярмолинская, А.С. Молотков, Д.З. Цицкарава. – Текст: непосредственный // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – № 66(2). – С. 77-92.
17. Коган, Е.А. Бесплодие при эндометриозе: краткий очерк современных представлений / Е.А. Коган, Е.О. Акопова, А.Л. Унанян. – Текст: непосредственный // Пространство и Время. - 2017. - №1 (27). – С. 251-259.
18. Кублинский, К.С. Молекулярно-генетические факторы и персонализированный подход к лечению генитального эндометриоз у

- женщин репродуктивного возраста: автореф. дис.... д-р мед. наук – Томск, 2018. – 48 с. – Текст: непосредственный.
19. Кузнецова, Д.Е. Лечение хронической тазовой боли у пациенток с тяжелыми формами наружного генитального эндометриоза / Д.Е. Кузнецова, Т.А. Макаренко, С.В. Прокопенко. – Текст: непосредственный // Фарматека. –2019. – № 26(13). – С. 53-57.
20. Линде, В.А. Эндометриозы. Патогенез, клиническая картина, диагностика и лечение / В.А. Линде, Н.А. Татарова // Москва: ГЭОТАР–Медиа. – 2010. – С. 182-192. ISBN: 978-5-9704-1502-3 – Текст: непосредственный.
21. Майорова, А.М.В. Факторы риска развития генитального эндометриоза среди девушек-подростков / А.М.В. Майорова, О.И. Боровикова, Н.Г. Лупаш. - Текст: непосредственный // Молодой ученый. –2019. – № 52 (290). – С.319-322.
22. Менжинская, И.В. Значение аутоантител в диагностике наружного генитального эндометриоза / И.В. Менжинская, А.Р. Мелкумян, С.В. Павлович. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. –2020. – № 1 (27). – С.99.
23. Молекулярно-генетический и иммуногистохимический анализ экспрессии ароматазы у больных наружным генитальным эндометриозом / Т.Э. Иващенко, М.И. Ярмолинская, Н.Ю. Швед, А.С. Молотков, И.М. Кветной, В.С. Баранов. – Текст: непосредственный // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Новосибирск. – 2019. – С. 87-92.
24. Молекулярно-генетические детерминанты развития эндометриоза / И.В. Пономаренко, А.В. Полоников, И.Н. Верзилина, М.И. Чурносков. Текст: непосредственный // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – № 18(1). – С. 82-86.
25. Молекулярно-генетические основы эндометриоза: диагностический потенциал наследуемых и экспрессируемых факторов / В.В. Маржевская,

- Т.С. Присяжная, В.И. Жамойдик, И.В. Берлев, А.В. Малек. - Текст: непосредственный // Журнал акушерства и женских болезней. –2018. – № 67(3). – С. 64-73.
26. Молекулярно-генетические особенности состояния эндометрия при эндометриозассоциированном бесплодии / М.Р. Оразов, М.Б. Хамошина, Л.М. Михалева, С.В. Волкова, М.З. Абитова, В.Б. Шустова, Т.Н. Хованская // Трудный пациент. – 2020. – № 18. – С. 23-32.
27. Обоскалова, Т.А. Особенности амбулаторного и стационарного лечения пациенток с эндометриозом / Т.А. Обоскалова, Е.Ю. Глухов, И.И. Астрыхина. – Текст: непосредственный // Гинекология. – 2019. – № 21(6). – С.51-56.
28. Окислительный стресс и эндометриоз: обзор литературы / Л.В. Адамян, М.М. Сонова, К.Н. Арсланян, О.Н. Логинова, Э.И. Харченко. – Текст: непосредственный // Лечащий врач. –2019. – № 12.– С. 20-25. № 66(2). – С. 77-92.
29. Оценка болевого синдрома пациенток с эндометриоз-ассоциированной тазовой болью, обусловленной наружным генитальным эндометриозом / М.Р. Оразов, Е.Н. Носенко, М.Б. Хамошина, Л.К. Барсегян и др. – Текст: непосредственный // Акушерство, Гинекология и Репродукция. – 2017. - №11 (2). – С.18-22.
30. Патофизиологические аспекты хронической тазовой боли и системного воспаления у пациенток с эндометриозом / Е.П. Хащенко, А.Д. Лобанова, В.Р. Юсубова, Е.В. Уварова, П.А. Вишнякова, В.Д. Чупрынин. – Текст: непосредственный // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2020. – № 1 (86). – С. 83-93.
31. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ CYP1A1, CYP1A2, CYP19, SULT1A1 у инфертильных женщин с наружным генитальным эндометриозом / Л.Н. Данилова, В.О. Червов, Н.В. Артымук, Л.А. Гордеева. – Текст: непосредственный // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2018. – № 3. – С. 25-34.



32. Пономаренко, И.В. Анализ распространения сочетания генов MAP2K5, FSHR, SFTA3 и GPRC5B у больных с гиперпластическими процессами матки / И.В. Пономаренко. Текст-непосредственный // В сборнике: Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии. сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева. – 2016. – С. 144-146.
33. Пономаренко, И.В. Молекулярные механизмы и факторы риска развития эндометриоза / И.В. Пономаренко, А.В. Полоников, М.И. Чурносков. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 3. – С. 26-31.
34. Радзинский, В.Е. Гинекология: учебник / ред. В. Е. Радзинского, А. М. Фукса - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 280-320 с. - ISBN 978-5-9704-4249-4. - Текст : электронный // URL : <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970442494.html> (дата обращения: 07.04.2019). - Режим доступа : по подписке.
35. Роль генетических полиморфизмов генов VEGF, COX2, MUC в развитии эндометриозассоциированного бесплодия / Н.В. Куликова, И.И. Коваленко, Д.В. Байбуз, Я.А. Лебедева. – Текст: непосредственный // Гинекология. – 2019. – № 21 (2). –С. 34-37.
36. Сенников, С.В. Альтернативный сплайсинг в формировании структуры системы цитокинов / С.В. Сенников, А.Н. Силков, В.А. Козлов. - Текст: непосредственный // Система цитокинов: теоретические и клинические аспекты / под ред. В.А. Козлова, С.В. Сенникова. – Новосибирск : Наука, 2004. – С. 7–23
37. Симбирцев, А.С. Функциональный полиморфизм генов регуляторных цитокинов / А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 3–12.
38. Современный взгляд на патогенез пролиферативных заболеваний матки Л.Г. Баженова, С.В. Шрамко, М.А. Сабанцев, Л.Ф. Гуляева. – Текст:

- непосредственный // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2018. – № 18. – С. 31-40.
39. Современные взгляды на патогенез генитального эндометриоза: роль гормональных, иммунологических, генетических факторов / М.А. Левкович, Н.В. Ермолова, Т.Г. Аванесова, И.В. Маркарян. – Текст: непосредственный // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – № 20(2-2). – С. 185-189.
40. Факторы риска развития эндометриоза / У.Н. Туманова, А.И. Щеголев, С.В. Павлович, В.Н. Серов. –Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2020. – № 2. – С. 68-75.
41. Чернуха, Г. Е. Эндометриоз и хроническая тазовая боль: причины и последствия / Г.Е. Чернуха. -Текст: непосредственный // Проблемы репродукции. - М.: Медиа Сфера, 2011. – С. 83-89.
42. Шалина, М.А. Современные возможности диагностики аденомиоза / М.А. Шалина, М.И. Ярмолинская, Е.И. Абашова. – Текст: непосредственный // Журнал акушерства и женских болезней. – 2020. – № 69. – С.73-80.
43. Щукина, Н.А Современный взгляд на диагностику и лечение эндометриоза / Н.А. Щукина, С.Н. Буянова. – Текст: непосредственный // РМЖ. – 2014. – № 14. – С. 1002.
44. Эндометриоз. [Электронный ресурс] : клинические рекомендации утвержденные Минздравом России / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева, Абросарова Ю.С. и др. – Москва, 2020. – Режим доступа: [https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/259\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/259_1)
45. Ярмолинская, М.И., Эффективность применения таргетной интерферонзаместительной терапии у больных наружным генитальным эндометриозом / М.И. Ярмолинская, Е.И. Дурнева, С.А. Сельков, С.В. Чепанов, А.В. Селютин, Д.И. Соколов. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. –2020. – № 5. – С. 105-112.
46. Яфарова, И.Ю. Разработка генетической панели для предрасположенности и оценки тяжести эндометриоза / И.Ю. Яфарова.

- Текст: непосредственный // В книге: Аспирантские чтения - 2018. Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – 2018. – С. 181-182.
47. A Prospective Study of Inflammatory Markers and Risk of Endometriosis / M. Fan, H.R. Harris, J.W. Rich-Edwards, et al. // *Am J Epidemiol.* – 2018. – Vol. 187 (3). – P. 515–522.
  48. A pilot study and case reports on endometrial microbiota and pregnancy outcome: An analysis using 16S rRNA gene sequencing among IVF patients, and trial therapeutic intervention for dysbiotic endometrium / K. Kyono, T. Hashimoto, S. Kikuchi, et al. // *Reprod. Med. Biol.* – 2019. – Vol. 18. – P. 72–82.
  49. A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women / B.A. Wee, M. Thomas, E.L. Sweeney, et al. // *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol. 58. – P. 341–348.
  50. A role for the endometrial microbiome in dysfunctional menstrual bleeding / E.S. Pelzer, D. Willner, M. Buttini, et al. // *Antonie van Leeuwenhoek.* – 2018. – Vol. 111. – P. 933–943.
  51. Abnormal peritoneal regulation of chemokine activation-The role of IL-8 in pathogenesis of endometriosis / J. Sikora, M. Smycz-Kubańska, A. Mielczarek-Palacz, et al. // *Am J Reprod Immunol.* – 2017. – Vol. 77(4).
  52. Abnormally located SSEA1+/SOX9+ endometrial epithelial cells with a basalis-like phenotype in the eutopic functionalis layer may play a role in the pathogenesis of endometriosis / D.K. Hapangama, J. Drury, L. Da Silva, et al. // *Hum Reprod.* – 2019. – Vol. 34(1). – P. 56-68.
  53. Adesanya, O.A. Thoracic endometriosis syndrome: Cutting the gordian knot - A case report and review of the literature / O.A. Adesanya, O.E. Kolawole // *Int J Surg Case Rep.* – 2020. – Vol. 66. – P. 68-71.
  54. Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: A single-center pilot study / K. Kyono, T. Hashimoto, Y. Nagai, et al. // *Reprod. Med. Biol.* – 2018. – Vol. 17. – P. 297–306.

55. Anti-IFNlammatory cytokines in endometriosis / W.J. Zhou, H.L. Yang, J. Shao, et al. // *Cell Mol Life Sci.* – 2019. – Vol. 76(11) – P. 2111-2132.
56. Association between endometriosis and hyperprolactinemia in IFNertile women / S. Esmaeilzadeh, P. Mirabi, Z. Basirat, et al. // *Iran J Reprod Med.* – 2015. – Vol. 13(3). – P. 155-60.
57. Association of Pelvic IFNlammatory Disease with Risk of Endometriosis: A Nationwide Cohort Study Involving 141,460 Individuals / F.W. Tai, C.Y. Chang, J.H. Chiang, et al. // *J Clin Med.* – 2018. – Vol. 7(11). – P. 379
58. Bacterial contamination hypothesis: A new concept in endometriosis / K.N. Khan, A. Fujishita, K. Hiraki, et al. // *Reprod. Med. Biol.* – 2018. – Vol. 17. – P. 125–133.
59. Baker, J.M., Uterine Microbiota: Residents, Tourists, or Invaders? J.M. Baker, D.M. Chase, M.M. Herbst-Kralovetz // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 208.
60. Balkowiec, M. The bimodal role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in etiology and pathogenesis of endometriosis (Review) M.Balkowiec, R.B. Maksym, P.K. Włodarski // *Mol Med Rep.* – 2018. – Vol. 18(3). – P. 3123-3136.
61. Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps / R.L. Fang, L.X. Chen, W.S. Shu, et al. // *Am. J. Transl. Res.* – 2016. – Vol. 8. – P. 1581–1592.
62. Basal and stimulated secretion of cytokines by peritoneal macrophages in women with endometriosis / N. Rana, D.P. Braun, R. House, et al. // *Fertil Steril.* – 1996. – Vol. 65:925–30.
63. Batt, R.E., Endometriosis from thelarche to midteens: pathogenesis and prognosis, prevention and pedagogy / R.E. Batt, M.F. Mitwally // *J Pediatr Adolesc Gynecol.* –2003. – Vol. 16(6). –P. 337-47.
64. Benner, M., How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium / M. Benner, G. Ferwerda, I. Joosten, R.G. van der Molen // *Hum. Reprod. Update.* – 2018. – Vol. 24. – P. 393–415.

65. Biomarkers for the Noninvasive Diagnosis of Endometriosis: State of the Art and Future Perspectives / C.V. Anastasiu, M.A. Moga, A. Elena Neculau, et al // *Int J Mol Sci.* – 2020 . – Vol. 21(5). – P. 1750.
66. Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy / Z. Wang, C. Dabrosin, X. Yin, et al. // *Semin Cancer Biol.* – 2015. – Vol. 35(Suppl). – P. S224–S243.
67. Campelo, A.E., Cellular actions of testosterone in vascular cells: mechanism independent of aromatization to estradiol A.E. Campelo, P.H. Cutini, V.L. Massheimer // *Steroids.* –2012. – Vol. 77(11). – P. 1033-40.
68. Common variation of the CYP17 gene in Iraqi women with endometriosis disease / S.H. Al-Rubae'i, T.S. Naji, K.M. Turki // *Genom Data.* – 2016 . – Vol. 11. – P. 55-59.
69. Characterization of Microbiota in Endometrial Fluid and Vaginal Secretions in IFNertile Women with Repeated Implantation Failure / K. Kitaya, Y. Nagai, W. Arai, et al. // *Mediators IFNlamm.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 4893437.
70. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene / H. Verstraelen, R. Vilchez-Vargas, F. Desimpel, et al. // *PeerJ.* – 2016. – Vol. 4. – P. e1602.
71. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization / E.B. Johnston-MacAnanny, J. Hartnett, L.L. Engmann, et al. // *Fertil Steril.* – 2010. – Vol. 93. – P. 437–441.
72. Chronic Niche IFNlammation in Endometriosis-Associated IFNertility: Current Understanding and Future Therapeutic Strategies / Y.H. Lin, Y.H. Chen, H.Y. Chang, et l. // *Int J Mol Sci.* – 2018 . – Vol. 19(8). – P. 2385.
73. Cytokines, Angiogenesis, and Extracellular Matrix Degradation are Augmented by Oxidative Stress in Endometriosis / A. Nanda, P. Banerjee, M. Dutta, et al. // *Ann Lab Med.* – 2020. – Vol. 40(5):390-397.
74. Deep endometriosis: definition, diagnosis, and treatment / P.R. Koninckx, A. Ussia, L. Adamyan, et al. // *Fertil Steril.* – 2012 . – Vol. 98(3) . – P. 564-71.

75. Detection of chronic endometritis by diagnostic hysteroscopy in asymptomatic infertile patients / F. Polisseni, E.A. Bambirra, A.F. Camargos // *Gynecol Obstet Invest.* – 2003. – Vol. 55. – P. 205-210.
76. Detection of chronic endometritis at fluid hysteroscopy / E. Cicinelli, L. Resta, R. Nicoletti et al. // *J Minim Invasive Gynecol.* – 2005. – Vol. 12. – P. 514-518.
77. Dienogest inhibits aromatase and cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E<sub>2</sub> production in human endometriotic stromal cells in spheroid culture / K. Yamanaka, B. Xu, I. Suganuma, et al. // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 97(2). – P. 477-82.
78. Dioxin and endometriosis: a new possible relation based on epigenetic theory / P. Giampaolino, L. Della Corte, V. Foreste, et al. // *Gynecol Endocrinol.* – 2020. – Vol. 36(4). – P. 279-284.
79. Does the endometrial cavity have a molecular microbial signature? / A.D. Winters, R. Romero, M.T. Gervasi, et al. // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9. – P. 9905.
80. Domingo, J. Oocyte cryopreservation for fertility preservation in women with cancer / J. Domingo, J.A. Garcia-Velasco // *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* – 2016. – Vol. 23.
81. Efficacy of Anti-VEGF/VEGFR Agents on Animal Models of Endometriosis: A Systematic Review and Meta-Analysis / S. Liu, X. Xin, T. Hua, et al. // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11(11). – P. e0166658.
82. Endometriosis and uterine malformations: infertility may increase severity of endometriosis J. Boujenah, E. Salakos, M. Pinto, et al. // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2017. – Vol. 96(6). – P. 702-706.
83. Endometriosis may be associated with mitochondrial dysfunction in cumulus cells from subjects undergoing in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection, as reflected by decreased adenosine triphosphate production / A.L. Hsu, P.M. Townsend, S. Oehninger, et al. // *Fertil Steril.* – 2015. – Vol. 103. – P. 347–52.

84. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: Next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit / J.M. Franasiak, M.D. Werner, C.R. Juneau et al. // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2016. – Vol. 33. – P. 129–136.
85. Endometrial microbiota in IFNertile women with and without chronic endometritis as diagnosed using a quantitative and reference range-based method / Y. Liu, K.K-W. Wong, E.Y.-L. Ko, et al. // *Fertil. Steril.* – 2019. – Vol. 112. – P. 707–717.
86. Endometrial receptivity in eutopic endometrium in patients with endometriosis: it is not affected, and let me show you why / J. Miravet-Valenciano, M. Ruiz-Alonso, E. Gomez, et al. // *Fertil Steril.* – 2017. – Vol. 108. – P. 28–31.
87. Endometrial mRNA expression of selected pro-IFNlammatory factors and mucins in repeat breeder cows with and without subclinical endometritis / K. Wagener, et al. // *Theriogenology.* – 2017. – Vol. 90. – P. 237–244.
88. Endometriosis: pathogenesis and treatment / Vercellini P., Viganò P., Somigliana E., et al. // *Nat Rev Endocrinol.* – 2014. – Vol. 10(5) . – P. 261-75.
89. Endometriosis-induced alterations in mouse metaphase II oocyte microtubules and chromosomal alignment: a possible cause of IFNertility / G. Mansour, R.K. Sharma, A. Agarwal, et al. // *Fertil Steril.* – 2010. – Vol. 94. – P. 1894–9.
90. Epidemiologic determinants of endometriosis: a hospital-based case-control study / L.B. Signorello, B.L. Harlow, D.W. Cramer, et al. // *Ann Epidemiol.* – 1997. – Vol. 7(4). – P. 267-741.
91. Escherichia coli contamination of menstrual blood and effect of bacterial endotoxin on endometriosis / K.N. Khan, M. Kitajima, K. Hiraki, et al. // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94. – P. 2860–2863.e1-3.
92. Evaluation of the frequency of G-765C polymorphism in the promoter region of the COX-2 gene and its correlation with the expression of this gene in the endometrium of women with endometriosis / V. Cavalcanti, T.G. Ponce, F.A. Mafra, G.M. André, et al. // *Arch Gynecol Obstet.* – 2016. – Vol. 293(1). – P. 109-115.

93. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure / I. Moreno, F.M. Codoñer, F. Vilella et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 215. – P. 684–703.
94. Fasciani, G. Artini High concentrations of the vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in ovarian endometriomata/ G. Fasciani // *Mol Hum Reprod.* – 2000. – Vol. 6. – P. 50-54.
95. Gacche, R.N. Targeting tumor micro-environment for design and development of novel anti-angiogenic agents arresting tumor growth R.N. Gacche, R.J. Meshram// *Prog Biophys Mol Biol.* – 2013. – Vol. 113. – P. 333–354.
96. Garcia-Fernandez, J. Endometriosis and Reproduction: What We Have Learned / J. Garcia-Fernandez, J.A. García-Velasco // *Yale J Biol Med.* – 2020. – Vol. 93(4). – P. 571-577.
97. Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis / R.O. Burney, S. Talbi, A.E. Hamilton, K.C. Vo, et al. // *Endocrinology.* – 2007. – Vol. 148. – P. 3814–26.
98. Genetic Characterization of Endometriosis Patients: Review of the Literature and a Prospective Cohort Study on a Mediterranean Population / S. Angioni, M.N. D'Alterio, A. Coiana, et al. // *Int J Mol Sci.* – 2020 . – Vol. 21(5). – P. 1765.
99. Genetic, Epigenetic, and Steroidogenic Modulation Mechanisms in Endometriosis / A. Zubrzycka, M. Zubrzycki, E. Perdas, et al. // *J Clin Med.* – 2020. – Vol. 9(5). – P. 1309.
100. Gouveia-Fernandes, S. Monocytes and Macrophages in Cancer: Unsuspected Roles // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – Vol. 1219. – P. 161-185.
101. Haldar, M. Origin, development, and homeostasis of tissue-resident macrophages / M. Haldar, K.M. Murphy // *Immunol. Rev.* – 2014. – Vol. 262, N 1. – P. 25–3
102. Hashimoto, T. Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients? / T. Hashimoto, K. Kyono // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2019. – Vol. 36. – P. 2471–2479.



103. Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenetic link / E. Cicinelli, G. Trojano, M. Mastromauro, et al. // *Fertil Steril.* – 2017. – Vol. 108 (2) . – P. 289-295.e1.
104. Human Endometriosis Tissue Microarray Reveals Site-specific Expression of Estrogen Receptors, Progesterone Receptor, and Ki67 / M. Colón-Caraballo, M. García, A. Mendoza et al. // *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* – 2019. – Vol. 27(7) . – P. 491-500.
105. IGF-I stimulates ER $\beta$  and aromatase expression via IGF1R/PI3K/AKT-mediated transcriptional activation in endometriosis / Y. Zhou, C. Zeng, X. Li, et al. // *J Mol Med (Berl).* – 2016. – Vol. 94(8). – P. 887-97.
106. Innate immune cells: gatekeepers of endometriotic lesions growth and vascularization / A. Capobianco, L. Cottone, A. Monno, et al. // *J. Endometr.* – 2010. – Vol. 2. –P. 55–62.
107. Intracrine Regulation of Estrogen and Other Sex Steroid Levels in Endometrium and Non-gynecological Tissues; Pathology, Physiology, and Drug Discovery / G. Konings, L. Brentjens, B. Delvoux et al. // *Front Pharmacol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 940.
108. Intrapelvic injection of menstrual endometrium causes endometriosis in baboons (*Papio cynocephalus* and *Papio anubis*) / T.M. D’Hooghe, C.S. Bambra, B.M. Raeymaekers, et al. // *Am J Obstet Gynecol.* – 1995. – Vol. 173. – P. 125–134.
109. Is endometrial receptivity transcriptomics affected in women with endometriosis? A pilot study/ J. Garcia-Velasco, A. Fassbender, M. Ruiz-Alonso, et al. // *Reprod Biomed Online.* – 2015. – Vol. 31. – P. 647-54.
110. Joseph, S. Endometriosis Knowledgebase: a gene-based resource on endometriosis / S. Joseph, S.D. Mahale // *Database (Oxford).* 2019. – Vol. 2019. – P. baz062.
111. Kitaya, K. Prevalence of chronic endometritis in recurrent miscarriages / K.Kitaya // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 95. – P. 1156–1158.

112. Lang, T.A. Statistical analyses and methods in the published literature: the sampl guidelines. In: Guidelines for Reporting Health Research: a User's Manual. Baltimore / T.A. Lang, D.G. Altman // Wiley, 2014, p. 264–274.
113. Macrophage and nerve interaction in endometriosis / J. Wu, H. Xie, S. Yao, et al. // J NeuroIFNlammation. – 2017. – Vol. 14(1). – P. 53.
114. Mardanian, F. The diagnostic role of cervico-vaginal fluid interleukins-1 $\alpha$  in endometriosis: A case-control study / F. Mardanian, Z. Sheikh-Soleimani // J Res Med Sci. 2014. – Vol. 19(12). – P. 1145-9.
115. McLaworthy, S.M. Pelvic pain and endometriosis / S.M. McLaworthy, R.W. Shaw // Oxford, Blackwell Science. – 1995. P. 112-146.
116. Mechanisms of pain in endometriosis / M. Morotti, K. Vincent, C.M. Becker // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2017. – Vol. 209. – P. 8-13.
117. Microbiome Profile of Deep Endometriosis Patients: Comparison of Vaginal Fluid, Endometrium and Lesion / C. Hernandez, P. Silveira, A.F. Rodrigues Sereia, et al. // Diagnostics. – 2020. – Vol. 10. – P. 163.
118. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis / K.N. Khan, A. Fujishita, H. Masumoto, et al. // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2016. – Vol. 199. – P. 69–75
119. New Opportunities for Endometrial Health by Modifying Uterine Microbial Composition: Present or Future? / N.M. Molina, A. Sola-Leyva, M.J. Saez-Lara // Biomolecules. – 2020. – Vol. 10(4). – P. 593.
120. Oocyte quality is decreased in women with minimal or mild endometriosis / B. Xu, N. Guo, M. Zhang, et al. // Sci Rep. – 2015. – Vol. 5. – P. 10779.
121. Ovarian endometrioma in an 11-year-old girl before menarche: a case study with literature review / M. Gogacz, M. Sarzyński, R. Napierała, et al. // J Pediatr Adolesc Gynecol. – 2012. – Vol. 25(1). – P. e5-e7.
122. Ovarian serous carcinoma: recent concepts on its origin and carcinogenesis // J. Li, O. Fadare, L. Xiang, et al. // J Hematol Oncol. – 2012. – Vol. 9. – P. 5-8.

123. Pathogenesis of endometriosis: Interaction between Endocrine and Inflammatory pathways / B.G. Patel, E.E. Lenk, D.I. Lebovic, et al. // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2018. – Vol. 50. – P. 50-60.
124. Pathogenesis of endometriosis: Look no further than John Sampson / J.L. Yovich, P.K. Rowlands, S. Lingham, et al. // *Reprod Biomed Online.* – 2020. – Vol. 40(1). – P. 7-11.
125. Pathophysiology and Immune Dysfunction in Endometriosis / S.H. Ahn, S.P. Monsanto, C. Miller et al. // *Biomed Res Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 795976.
126. Peripheral changes in endometriosis-associated pain / M. Morotti, K. Vincent, J. Brawn, et al. // *Hum Reprod Update.* – 2014. – Vol. 20(5). – P. 717-36.
127. Pomolic acid suppresses HIF1  $\alpha$ /VEGF-mediated angiogenesis by targeting p38-MAPK and mTOR signaling cascades / J.H. Park, J. Yoon, B. Park // *Phytomedicine.* – 2016. – Vol. 23. – P. 1716–1726.
128. Postmenopause as a key factor in the composition of the Endometrial Cancer Microbiome (ECbiome) / D.M. Walsh, A.N. Hokenstad, J. Chen, et al. // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9. – P. 19213.
129. Potential contribution of the uterine microbiome in the development of endometrial cancer / M.R.S. Walther-Antônio, J. Chen, F. Multinu et al. // *Genome Med.* – 2016. – Vol. 8. – P. 122.
130. Re-assessing microbiomes in the low-biomass reproductive niche / J.L. O’Callaghan, R. Turner, M. Dekker Nitert, et al. // *BJOG.* – 2020. – Vol. 127. – P. 147–158.
131. Regulation of matrix metalloproteinases activity studied in human endometrium as a paradigm of cyclic tissue breakdown and regeneration / H.P. Gaide Chevronnay, C. Selvais, H. Emonard, et al. // *Biochim Biophys Acta.* – 2012. – Vol. 1824(1). – P. 146-56.
132. Reproductive Microbiomes: Using the Microbiome as a Novel Diagnostic Tool for Endometriosis / M.A. Cregger, K. Lenz, E. Leary, et al. // *Reprod. Immunol. Open Access.* – 2017. – Vol. 2:36.

133. Role of TGF-betas in normal human endometrium and endometriosis / C. Omwandho, L. Konrad, G. Halis et al. // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25. – P. 101-109.
134. Serum and peritoneal fluid levels of interleukin-6 and interleukin-37 as biomarkers for endometriosis / J. Jiang, Z. Jiang, M. Xue // *Gynecol Endocrinol.* – 2019. – Vol. 35(7). – P. 571-575.
135. Serum level of IL-10 is increased in patients with endometriosis, and IL-10 promotes the growth of lesions in a murine model / J.L. Suen, Y. Chang, P.R. Chiu, et al. // *Am J Pathol.* – 2014. – Vol. 184(2). – P. 464-71.
136. Shogaol reduces progression of experimental endometriosis in vivo and in vitro via regulation of VEGF and inhibition of COX-2 and PGE2-mediated IFN inflammatory responses / D. Wang, Y. Jiang, X. Yang, et al. // *Korean J Physiol Pharmacol.* – 2018. – Vol. 22(6). – P. 627-636.
137. Stratton, P. Chronic pelvic pain and endometriosis: translational evidence of the relationship and implications / P. Stratton, K.J. Berkley // *Hum Reprod Update.* – 2011. – Vol. 17(3). – P. 327-46.
138. Suardika, A. New insights on the pathogenesis of endometriosis and novel non-surgical therapies / A. Suardika, T.G Astawa Pemayun // *J. Turk Ger Gynecol Assoc.* 2018. – Vol. 19(3). – P. 158-164.
139. Subpopulations of macrophages within eutopic endometrium of endometriosis patients / A. Takebayashi, F. Kimura, Y. Kishi Y., et al. // *Am J Reprod Immunol.* – 2015. – Vol. 73. – P. 221– 231.
140. Systematic Comparison of Bacterial Colonization of Endometrial Tissue and Fluid Samples in Recurrent Miscarriage Patients: Implications for Future Endometrial Microbiome Studies / Y. Liu, K.K-W. Wong, E.Y.-L. Ko, et al. // *Clin. Chem.* – 2018. – Vol. 64. – P.1743–1752.
141. Systematic hysteroscopy prior to in vitro fertilization / J. Feghali, J. Baker, J.M. Mayenga, et al. // *Gynecol Obstet Fertil.* – 2003. – Vol. 31. – P. 127-131.

142. Taxonomical and Functional Assessment of the Endometrial Microbiota in A Context of Recurrent Reproductive Failure: A Case Report / I. Garcia-Grau, D. Perez-Villaroya, D. Bau, et al. // *Pathogens*. – 2019. – Vol. 8. – P. 205.
143. TGF- $\beta$  and the TGF- $\beta$  Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology / M. Morikawa, R. Derynck, K. Miyazono // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2016. – Vol. 8(5):a021873.
144. The association between endometriosis and chronic endometritis / A. Takebayashi, F. Kimura, Y. Kishi, et al. // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9(2). – P. e88354.
145. The content of cytokines IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-4 and the level of expression in macrophages CD86 and CD163 in peritoneal fluid has a reverse correlation with the degree of severity of external genital endometriosis / A.M. Krasnyi, A.A. Sadekova, T.G. Sefihanov, et al. // *Biomed Khim*. – 2019. – Vol. 65(5) . – P. 432-436.
146. The diagnosis of chronic endometritis in IFNertile asymptomatic women: A comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology / I. Moreno, E. Cicinelli, I. Garcia-Grau, et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol*. – 2018. – Vol. 218. – P. 602–602.
147. The diploid genome sequence of an individual human / S. Levy, G. Sutton, P.C. Ng et al. // *PLoS Biol*. – 2007. – Vol. 5, N 10.
148. The dynamic changes in the number of uterine natural killer cells are specific to the eutopic but not to the ectopic endometrium in women and in a baboon model of endometriosis / J.A. Drury, K.L. Parkin K.L., L. Coyne et al. // *Reprod Biol Endocrinol*. – 2018. – Vol. 16. – P. 67.
149. The effect of endometriosis, its stage and activity, and of autoantibodies on in vitro fertilization and embryo transfer success rates W.P. Dmowski, N. Rana, J. Michalowska, et al. // *Fertil Steril*. – 1995 . – Vol. 63(3). – P. 555-62.
150. The endometrial immune environment of women with endometriosis / J. Vallvé-Juanico, S. Houshdaran, L.C. Giudice // *Hum Reprod Update*. – 2019 . – Vol. 25(5). – P. 564-591.

151. The metagenome of the female upper reproductive tract / F. Li, C. Chen, W. Wei, et al. // *Gigascience*. – 2018. – Vol. 7. – P. giy107.
152. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases / C. Chen, X. Song, W. Wei, et al. // *Nat. Commun.* – 2017. – Vol. 8. – P. 875.
153. The Origin and Pathogenesis of Endometriosis / Y. Wang, K. Nicholes. I.M. Shih // *Annu Rev Pathol.* – 2020. – Vol. 15. – P. 71-95.
154. The Pathogenesis of Endometriosis: Molecular and Cell Biology Insights / A.S. Laganà, S. Garzon, M. Götte, et al. // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20(22) . – P. 5615.
155. The role of gene polymorphisms in endometriosis / M. Matalliotakis, M.I. Zervou, C. Matalliotaki et al. // *Mol Med Rep.* – 2017. – Vol. 16(5). – P. 5881-5886.
156. The role of NF-kappaB in endometriosis / A. Kaponis, T. Iwabe, F. Taniguchi, et al. // *Front Biosci (Schol Ed).* – 2012. – Vol. 4. – P. 1213-34.
157. The role of TGF- $\beta$  in the pathophysiology of peritoneal endometriosis / V.J. Young, S.F. Ahmad, W.C. Duncan, et al. // *Hum Reprod Update.* – 2017. – Vol. 23(5). – P. 548-559.
158. The involvement of multifunctional TGF- $\beta$  and related cytokines in pathogenesis of endometriosis / J. Sikora, M. Smycz-Kubańska, A. Mielczarek-Palacz, et al. // *Immunol Lett.* – 2018. – Vol. 201. – P. 31-37.
159. Thoracic endometriosis syndrome is strongly associated with severe pelvic endometriosis and IFNertility / D. Soriano, R. Schonman, I. Gat, et al. // *J Minim Invasive Gynecol.* – 2012. – Vol. 19(6). – P. 742-8.
160. Total cortisol levels are reduced in the periovulatory follicle of IFNertile women with minimal-mild endometriosis / M.P. Smith, S.D. Keay, F.C. Margo, et al. // *Am J Reprod Immunol.* – 2002. – Vol. 47. – P. 52-6.
161. Update on endometriosis pathogenesis / A. Czyzyk, A. Podfigurna, A. Szeliga, et al. // *Minerva Ginecol.* – 2017. – Vol. 69(5) . – P. 447-461.

162. Ushio-Fukai, M. Reactive oxygen species and angiogenesis: NADPH oxidase as target for cancer therapy / M. Ushio-Fukai, Y. Nakamura // *Cancer Lett.* – 2008. – Vol. 266. – P. 37–52.
163. Ushio-Fukai, M. Reactive oxygen species as mediators of angiogenesis signaling-Role of NAD(P)H oxidase / M. Ushio-Fukai, R.W. Alexander // *Mol Cell Biochem.* – 2004. – Vol. 264. – P. 85–97.
164. Uterine Immunity and Microbiota: A Shifting Paradigm. *Front* / C. Agostinis, A. Mangogna, F. Bossi, et al. // *Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 2387.
165. VEGF as a potential target in lung cancer / D. Frezzetti, M. Gallo, M.R. Maiello, et al. // *Expert Opin Ther Targets.* – 2017. – Vol. 21. – P. 959–966.
166. Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis / J. McLaren, A. Prentice, D.S. Charnock-Jones, et al. // *Hum Reprod.* – 1996. – Vol. 11. – P. 220-3.
167. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis / C.S. Melincovici, A.B. Boşca, S. Şuşman et al. // *Rom J Morphol Embryol.* – 2018. – Vol. 59(2). – P. 455-467
168. Vassiliadis, S. Premature immunosenescence impairs immune surveillance allowing the endometriotic stem cell to migrate: The cytokine profile as a common denominator / S.Vassiliadis // *J Endometriosis* 2010. – Vol. 2. – P. 718.