

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОСТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

АРЕШЯН КНАРИК АРУТЮНОВНА

ЭНДОМЕТРИОИДНЫЕ КИСТЫ ЯИЧНИКОВ: КЛИНИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ

14.01.01 – акушерство и гинекология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

научный руководитель:
д.м.н., профессор
Светлана Олеговна Дубровина

Уфа 2019

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА I. ЭНДОМЕТРИОИДНЫЕ КИСТЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	22
1.1 Понятие об эндометриозе.....	22
1.2 Эндометриоз с точки зрения роли стволовых клеток	25
1.3 Современные представления об эндометриоидных кистах яичников	30
1.4 Оперативное лечение эндометриоидных кист яичников.....	33
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОК ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП	41
ГЛАВА 3. МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК ЭУТОПИЧЕСКОГО И ЭУТОПИЧЕСКОГО ПРИ ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ КИСТАХ ЯИЧНИКОВ, А ТАКЖЕ ЭУТОПИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИЯ БЕЗ ЭНДОМЕТРИОЗА	48
3.1. Результаты морфометрического исследования	48
ГЛАВА 4. ЭКСПРЕССИЯ металлопротеиназ, CD15 и 45, PDGFR β В ЭКТОПИЧЕСКОМ И ЭУТОПИЧЕСКОМ ЭПИТЕЛИИ У ЖЕНЩИН С ЭНДОМЕТРИОИДНЫМИ КИСТАМИ ЯИЧНИКОВ И БЕЗ ЭНДОМЕТРИОЗА .	58
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	72
ГЛАВА 6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	82
Список сокращений и условных обозначений.....	85
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	87

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Эндометриоз – это патология, характеризующаяся присутствием эндометриальной стромы и желез в экстрапеческих локализациях за пределами полости матки. В репродуктивном возрасте до 10% женщин страдают данным заболеванием, которое является причиной хронических диспареунии, тазовых болей, нарушений менструального цикла и бесплодия [186]. От старта симптоматики до постановки диагноза в среднем проходит 5-7 лет [163].

Значимость одной из форм эндометриоза – эндометриоидных кист яичников – сложно переоценить. Эндометриомы приводят к нарушению функции яичников и бесплодию [36]. Оперативное лечение эндометриоидных кист не приводит к окончательной ликвидации проблемы, снижает овариальный резерв [171, 183], не «давая гарантии» на отсутствие рецидива [62]. Следующее за оперативным вмешательством гормональное лечение не обеспечивает предупреждения рецидивов ЭК, возникающих даже на фоне проводимой терапии [156].

Степень разработанности темы

В задержке постановки диагноза и «терапевтической анархии» лежит непонимание патогенетических аспектов эндометриоза. Даже эксперты этого заболевания, имея разные мнения о патогенезе процесса, используют разные терапевтические подходы. Например, приверженцы теории ретроградной менструации с последующей имплантацией клеток эндометрия в брюшной полости полагают, что пациентам показано лечение, альтернативное хирургическому, что, в конечном счете, направлено на купирование симптомов, но не устранение проблемы в целом [75]. Возможно, что в основе перитонеального эндометриоза, эндометриоза яичников и глубокого инфильтративного эндометриоза лежат разные патогенетические механизмы. Есть мнение, что поверхностные импланты появляются из фрагментов эндометрия,

попавших в перитонеум, в то время как патогенез эндометриоидных кист и ретроцервикального эндометриоза менее очевиден [186].

Актуальность темы и глобальный интерес ученых к этой проблеме привели к тому, что отмечился очевидный прогресс в понимании этого заболевания [186]. Эндометриоз в последнее десятилетие стал рассматриваться с точки зрения предполагаемого вовлечения в патогенез заболевания эндометриальных стволовых клеток (клеток-предшественников). Эндометриальные стволовые клетки, попадающие в брюшную полость уже во время неонатального кровотечения, существуют в перитонеуме до наступления менархе при отсутствии поддержки циркулирующих эстрогенов за счет нишевых клеток, распространяющихся в брюшную полость, видимо, также во время неонатального маточного кровотечения [86]. Но не только ретроградная менструация играет роль в развитии эндометриоза. Предполагается, что имеет место повреждение паракринных и эндокринных сигналов, а также ряд эпигенетических изменений в эктопическом эндометрии [105].

По мнению P. Vercellini, избежать рецидива эндометриоидных кист яичников (ЭКЯ) можно путем длительного использования гормональной терапии [189]. Но после прекращения приема риск рецидива полностью возобновляется [158].

Возможным объяснением рецидива эндометриоза после отмены терапии может служить отсутствие полного воздействия на все патогенетические механизмы формирования ЭКЯ. Поэтому, несомненно, актуальным является исследование патогенеза ЭКЯ с целью разработки в обозримом будущем действительно патогенетически обоснованных схем лечения.

Цель исследования

Усовершенствование методов профилактики рецидива эндометриоидных кист яичников на основании исследования клинических особенностей и патогенетических механизмов их формирования.

Задачи исследования:

1. Исследовать клиническо-anamnestическую характеристику пациенток с эндометриодными кистами яичников и без эндометриоза.
2. Изучить морфометрические характеристики эктопического и эутопического эндометрия пациенток с эндометриодными кистами яичников и нормального эндометрия женщин без эндометриоза.
3. Установить уровни экспрессии металлопротеиназ (MMP) 1 и 9, фактора роста тромбоцитов β (PGFR β platelet derived growth factor beta), CD45, (общего антигена лейкоцитов), CD15 (SSEA, маркера дифференцированных плюриопотентных стволовых клеток человека) в эутопическом и эктопическом эндометрии пациенток с эндометриодными кистами яичников и нормальном эндометрии женщин, не страдающих эндометриозом.
4. Провести проспективное исследование женщин, подвергнутых оперативному лечению по поводу эндометриодных кист яичников.

Научная новизна

Впервые проведено сравнение морфометрической характеристики эутопического и эктопического эндометрия при ЭКЯ с нормальным эндометрием женщин без эндометриоза.

Впервые одновременно иммуногистохимически определена экспрессия PDGFR β , фактора роста тромбоцитов β (platelet derived growth factor beta), CD45, (общего антигена лейкоцитов), SSEA (CD15, маркера дифференцированных плюриопотентных стволовых клеток человека) в эктопическом и эутопическом эндометрии женщин с ЭКЯ и женщин без эндометриоза.

Впервые проведено сравнение уровней экспрессии металлопротеиназ MMP1 и MMP9 в эктопическом и эутопическом эндометрии при ЭКЯ и нормальном эндометрии пациенток без эндометриоза.

Теоретическая и практическая значимость

Выявлено, что пациентки с ЭКЯ и без эндометриоза с бесплодием сопоставимы по возрасту, началу менархе, альгодисменорее и перенесенным воспалительным заболеваниям органов малого таза ($p > 0,05$), но отличаются в

отношении гиперполименореи ($p=0,003$). Для пациенток с ЭКЯ характерен более выраженный спаечный процесс органов малого таза по сравнению с пациентками с бесплодием без эндометриоза (I-II степень, $p=0,002$; III-IV степень, $p=0,033$).

Получено подтверждение не только отличий в морфометрических характеристиках эктопического и эутопического эндометрия пациенток с диагнозом «эндометриозные кисты яичников». (толщина секреторной части клетки, цитоплазматической мембраны и железы, площадь ядра, средние плотность и яркость), но и значимых различий в эутопическом эндометрии пациенток с ЭКЯ и без эндометриоза (толщина железы, цитоплазматической и ядерной мембран).

Статистически значимые различия выявлены по всем исследуемым иммуногистохимическим маркерам (MMP1, MMP9, CD15, CD45 и PDGFR) при сравнении эктопического и эутопического эндометрия пациенток с диагнозом «эндометриозные кисты яичников».

При сопоставлении данных иммуногистохимических исследований эутопического эндометрия больных с эндометриозом с нормальным эндометрием значимые различия отмечены между PDGFR, MMP9 и CD15 с повышением в железах эутопического эндометрия. CD45 как в строме, так и в железах выше в нормальном эндометрии. Уровень MMP1 не отличается в железах и строме эутопического эндометрия по сравнению с нормальным.

Установлено, что рецидивы эндометриозных кист развиваются после отмены терапии в послеоперационном периоде в 24,28% случаев при двухлетнем наблюдении. Доказано, что наибольшим эффектом в плане предупреждения рецидива после оперативного вмешательства обладают гестагены.

Методология и методы исследования

Все этапы научной работы одобрены локальным этическим комитетом ФГБУ "РНИИАП" Минздрава России (протокол №50/5, от «18» ноября 2014г.). Исследование проводилось на базе ФГБУ "РНИИАП" Минздрава России (главный врач — Ширинг В.А.) и морфологической лаборатории ФГБУ

"РНИИАП" Минздрава России (заведующий лабораторией – Мажугин В.Ю.) в период 2014–2017 гг.

Исследование носило характер когортного сравнительного и включало 94 женщины. Пациентки были разделены на две группы:

- Первую группу (I группа) составили 70 женщин с диагнозом «эндометриоидные кисты яичников».
- Во вторую группу (II группа) вошли 24 пациентки с бесплодием неясного (неуточненного) генеза без эндометриоза (группа сравнения).

Критерии включения в исследование для I (основной) группы:

- репродуктивный возраст;
- ультразвуковые признаки эндометриоидных кист яичников;
- а также лапароскопическое и морфологическое их подтверждение.

Критерии исключения для I (основной) группы:

- наличие экстрагенитальных форм эндометриоза;
- опухоли яичников другой этиологии или новообразования других локализаций;
- воспалительные заболевания органов малого таза;
- варикозная трансформация вен малого таза;
- сопутствующая экстрагенитальная патология в стадии декомпенсации.

Критерии включения в исследование для II группы (сравнения):

- репродуктивный возраст женщин;
- бесплодие неясной этиологии.

Критерии исключения для II группы (сравнения):

- наличие наружного генитального эндометриоза или экстрагенитальные формы эндометриоза;
- аденомиоз;
- опухоли яичников другой этиологии или новообразования других локализаций;

- воспалительные заболевания органов малого таза;
- варикозная трансформация вен малого таза;
- сопутствующая экстрагенитальная патология в стадии декомпенсации.

Проведение исследования было разделено на несколько этапов:

I этап – выполнение анализа клинико-анамнестических данных и результатов гинекологического обследования.

В первую группу включались пациентки с диагнозом эндометриoidной кисты яичника, установленным в ходе оперативного вмешательства. Для второй группы показанием к лапароскопии было исключение трубно-перитонеального бесплодия.

II этап – для I группы выполнение эндоскопического исследования с диагностикой наружного генитального эндометриоза с подтверждением наличия эндометриoidных кист и определение степени тяжести эндометриoidного поражения согласно последней классификации Американского общества фертильности (r-AFS); выполнялось удаление эндометриoidной кисты, сальпингооовариолизис, гистероскопия с забором материала для морфологического и морфометрического исследований; для пациенток II группы также выполнялась лапароскопия с хромогидротубацией и гистероскопией, производился забор цуга эндометрия для гистологического, морфологического и морфометрического исследований.

III этап – морфологическое (гистологическое и иммуногистохимическое) и морфометрическое исследование эндометриoidных кист яичников, соскобов (для I группы) и биоптатов (для II группы) из полости матки.

IV этап – проведение проспективного наблюдения за женщинами первой группы, перенесших оперативное лечение, с оценкой частоты наступления рецидива или беременности после отмены гормональной терапии, анализ полученных данных, сопоставление результатов с данными литературы.

В клиническую часть обследования был включен сбор и анализ жалоб, анамнеза заболевания, характера менструальной функции (время наступления

менархе, регулярность и продолжительность менструации, наличие или отсутствие альгодисменореи, нарушений менструального цикла и способы коррекции).

Анализ репродуктивной функции проводился на основе следующих параметров: количество беременностей, самопроизвольные и искусственные прерывания беременности в анамнезе, длительность и характер бесплодия (первичное/вторичное). Анализу подвергались сопутствующие гинекологические заболевания, оценивался соматический статус пациенток. При оценке упор делался на количество и объем оперативных вмешательств в анамнезе. Всем пациентам было проведено рекомендованное до и во время госпитализации физикальное и гинекологическое обследования.

При выполнении гинекологического исследования оценивали состояние наружных половых органов, проводился осмотр влагалища и шейки матки в зеркала и бимануальное влагалищное исследование. При последнем внимание уделяли наличию или отсутствию образований малого таза, а в случае их наличия - размерам, консистенции, форме, характеру поверхности (гладкая, бугристая), болезненности при пальпации и девиациях, подвижности.

Пациенткам обеих групп выполнено стандартное предоперационное лабораторное обследование: общие анализы крови и мочи, определение группы крови и резус-принадлежности, реакции Вассермана, ВИЧ, маркёров вирусных гепатитов В и С, анализ биохимических показателей крови, гемостазиограммы, выполнялось ЭКГ и рентгенограмма органов грудной клетки.

Ультразвуковой метод

Исследование органов малого таза с помощью ультразвукового сканирования осуществлялось на оборудовании для ультразвуковой диагностики «Toshiba (Eccocce) SSA340» с применением электронного конвексного интравагинального датчика, диапазон частоты 3,5-6,5 МГц (Япония).

Ультразвуковое исследование проводилось на 5–7-й день менструального, в случаях подозрения на ЭКЯ УЗИ выполнялось дву-трехкратно – в течение нескольких менструальных циклов для дифференциальной диагностики ЭКЯ и

персистирующих кист желтого тела. При проведении исследования осуществлялась оценка анатомических особенностей и состояния органов малого таза, структуры шейки матки, миометрия и цервикального канала, функциональной активности яичников (визуализация желтого тела, особенности фолликулярного аппарата), а также присутствие или отсутствие в них патологических образований, косвенные признаки спаечного процесса. Во время УЗ-диагностики ЭКЯ обращали внимание на размеры, структуру, характер контура, звукопроводимость, локализацию и подвижность образования яичников в случаях их наличия.

Эндоскопический метод

Оперативное лечение лапароскопическим доступом проводили на оборудовании фирмы «Karl Storz» (Германия) с использованием общей анестезии с искусственной вентиляцией легких в положении Тренделенбурга. Выполнение оперативного вмешательства начиналось с создания карбоксиперитонеума общим объемом до 3-4 литров, который поддерживал давление внутри брюшной полости на уровне 12 мм.рт.ст. Автоматическая регулировка давления и скорости инсуффляции в брюшной полости осуществлялась лапарофлатором. В брюшную полость вводили 3 троакара: для лапароскопа в области пупочного кольца 1 калибром диаметром 11 мм, для манипуляторов справа и слева в надлобковых областях 2 калибром диаметром 7 мм,. Для обеспечения гемостаза применялись би- и монополярный коагуляторы.

При оперативном вмешательстве выполнялся осмотр париетальной брюшины, кишечника, диафрагмы и печени. Ревизию органов малого таза проводили в определенной последовательности: осмотр матки (определяли ее размеры, цвет консистенцию, подвижность), пузырно-маточного пространства, крестцово-маточных и широких связок. Особенно тщательно проводилась оценка эндометриоидных очагов (цвет, число, размер, локализация и глубина инвазии). Затем оценивали яичники, осматривали их со всех сторон с помощью манипуляторов, определяли их структуру, величину, большое внимание уделяли их поверхности и брюшине подъяичниковой ямке, наличию или отсутствию ЭКЯ,

присутствию и выраженности спаек, вовлечению придатков, матки и смежных органов в спаечный процесс. Хромогидротубация производилась с использованием раствора индигокармина с целью уточнения проходимости маточных труб в случае наличия бесплодия. У пациенток первой группы после адгезиолизиса удалялись эндометриоидные кисты яичников, производилось иссечение и коагуляция очагов эндометриоза. Цистэктомия выполнялась по ранее описанной методике [24, 125] во избежание повреждения здоровой ткани яичника. При наличии спаечного процесса в обеих группах производилось рассечение спаек.

Стадию эндометриоза (в I группе) и оценку степени спаечного процесса (в обеих группах) определяли согласно классификации Американского общества по репродуктивной медицине (r-AFS) (1996): I степень эндометриоза — минимальная (1–5 баллов), II степень — легкая (6–15 баллов), III степень — средняя (16–40 баллов), IV степень — тяжелая (более 40 баллов) (Таблица 1) [161].

Таблица 1 – Классификация перитонеального эндометриоза (r – AFS)

Очаги эндометриоза			Менее 1 см	1 – 3 см	Более 3 см
Брюшина	Поверхностный		1	2	4
	Глубокий		2	4	6
Яичники	Правый	Поверхностный	1	2	4
		Глубокий	4	16	20
	Левый	Поверхностный	1	2	4
		Глубокий	4	16	20
Облитерация позадиматочного пространства				Частичная	Полная
				4	40
Спайки			Менее 1/3 запаяно	1/3–2/3 запаяно	Более 2/3 запаяно
Яичники	Правый	Пленочные	1	2	4
		Плотные	4	8	16
	Левый	Пленочные	1	2	4
		Плотные	4	8	16
Маточные трубы	Правая	Пленочные	1	2	4
		Плотные	4*	8*	16
	Левая	Пленочные	1	2	4
		Плотные	4*	8*	16

Примечание – * – полностью запаянный фимбриальный отдел трубы оценивать «16»

Оценка спаечного процесса в обеих группах выполнялась как изложено в таблице 1.

В первой группе пациенток при оперативном вмешательстве производился забор стенки эндометриоидной кисты (эктопический эндометрий) для морфологического и морфометрического исследований стенки эндометриоидных кист.

В случаях наличия на брюшине очагов наружного генитального эндометриоза во время оперативного лечения выполняли их коагуляцию. При непроходимости маточных труб проводили сальпингонеостомию.

С целью снижения вероятности спаечного процесса назначалась Лонгидаза с первых суток послеоперационного периода [25].

Гистероскопия

Гистероскопия выполнялась вместе с лапароскопией с применением гистероскопа фирмы «Karl Storz» и использованием изотонического раствора NaCl. Гистероскопию выполняли до и после отдельного выскабливания матки у пациенток основной группы при наличии визуальных признаков гиперпластического процесса эндометрия. В группе сравнения показанием для выполнения гистероскопии было бесплодие. После гистероскопии во второй группе проводился цуг эндометрия. Полученный соскоб отправляли на гистологическое, морфометрическое и иммуногистохимическое исследование.

Послеоперационная реабилитационная терапия включала стандартную антибактериальную, раннюю двигательную активность и минимальную инфузионно-трансфузионную (согласно методике «Fast-track surgery» [159], анальгетическую терапию.

В послеоперационном периоде назначалась следующая терапия: агонист гонадотропин-рилизинг гормона (аГнРГ «Бусерелин-депо», ЗАО «Фарм-Синтез», Россия) 3,75 мг внутримышечно однократно в 28 дней в течение 3 месяцев с add-back терапией со 2-го месяца приема. Диеногест применялся в дозе 2 мг в день 3 месяца (Dienogest, Bayer Pharmaceutica) в непрерывном режиме. Комбинированные оральные контрацептивы (КОК), имеющие в составе

этинилэстрадиол 0,03 мг + диеногест 2 мг, были рекомендованы на 3 месяца в контрацептивном режиме. Дидрогестерон (Duphaston, Abbott) назначался с 5 по 25 день менструального цикла в дозе 10 мг 2 раза в день 3 месяца с последующим переходом на использование с 16 по 25 день до наступления беременности. Предпочтения в терапии были основаны на решении врача после обсуждения с пациенткой.

Морфометрическое исследование

Материал (стенка эндометриоидной кисты, соскоб из полости матки или цуг эндометрия) забирался у женщин путем взятия биопсий размерами от 0,1 до 0,5 см и помещался в одноразовые герметичные контейнеры с соотношением фиксирующего раствора к ткани как 10 и более к 1. В качестве фиксирующего вещества использовался 10% забуференный формалин нейтральной реакции.

Прификсированный материал поступал в аппарат автоматической гистологической проводки вакуумного типа с использованием ультразвука для улучшения проникновения веществ в ткани Sakura Tissue-Tek VIP 6. Проводка осуществлялась по следующей программе (Таблица 2).

Таблица 2 – Программа гистологической проводки

1.	10% забуференный формалин	2:00 часа	
2.	10% забуференный формалин	3:00 часа	
3.	Изопропанол	0:45 часа	
4.	Изопропанол	0:45 часа	
5.	Изопропанол	0:45 часа	
6.	Изопропанол	0:45 часа	
7.	Изопропанол	0:45 часа	
8.	Изопропанол	0:45 часа	
9.	Ксилол	1:00 часа	
10.	Ксилол	1:00 часа	
11.	Гистомикс [гомогенизированная парафиновая среда для гистологической заливки и проводки тканей].	1:00 часа	58 ⁰ Цельсия
12.	Гистомикс	1:00 часа	58 ⁰ С
13.	Гистомикс	1:00 часа	58 ⁰ С
14.	Гистомикс	0:45 часа	58 ⁰ С

После проводки выполнялась заливка материала гистомиксом в стандартные заливочные формы белого цвета с округлыми отверстиями при использовании стандартных заливочных форм, выполненных из нержавеющей стали.

Срезы получали путем проводки на ротационном микротоме Accu-Cut SRM Sakura с использованием одноразовых ножей для стандартных тканей. Срезы имели толщину не более 4 мкм, расправлялись на водяной бане на покровные стекла, размерами 25x25 и 25x50 мм, фирмы Polysinemenzel-glaser. Для контроля использовались те же срезы, которые использовались для иммуногистохимического исследования (ИГХ) эутопического, эктопического и нормального эндометрия. Срезы подвергались идентичной процедуре окрашивания ИГХ только без использования (экспрессии) антител.

Окрашивание образцов осуществлялось по стандартной методике гематоксилином Карацци и водно-спиртовым эозином Vitrostain. Использовался покровной бальзам фирмы Bio-Mount synthetic bases.

Микроскопия осуществлялась с использованием микроскопа Nikon eclipse 50i. Используемые объективы: 10x/0,25, 20x/0,40, 40x/0,65, 100x/1,25. Бинокуляры по 10x/22.

Морфометрический фрагмент исследования был проведен с помощью персонального компьютера в комплекте с цифровой камерой (программа Windows 7), пакета прикладных программ и цифровой камеры Nikon digital sight DS-U3.

Иммуногистохимическое исследование

Подготовка к ИГХ исследованию проводилась по стандартной схеме гистологического исследования.

Протокол окрашивания ИГХ

1. Перед окрашиванием гистологические срезы депарафинизировали. Для этого стекла (адгезивные) со срезами помещали минимум на 20 минут (максимум

1 час) в термостат с температурой не выше 60⁰. При комнатной температуре (20-25⁰С) проводили следующие процедуры со срезами:

- 5 минут в кювете с ксилолом,
- 5 минут в кювете с ксилолом (свежий),
- удаляли избыток жидкости,
- 3 минуты в кювете с 95% этанолом,
- 3 минуты в кювете с 95% этанолом (свежий),
- удаляли избыток жидкости,
- 3 минуты в кювете с 70% этанолом,
- 3 минуты в кювете с 70% этанолом (свежий),
- удаляли избыток жидкости,
- минимум 30 секунд в кювете с дистиллированной водой.

2. Демаскировка антигена.

Наполняли лабораторные стаканчики Corlin разведённым раствором для демаскировки антигена. Раствор концентрированного буфера для демаскировки антигена 10х разбавляли дистиллированной водой или деионизированной водой в соотношении 1:10. После разведения раствор для демаскировки антигена хранили при +5⁰С не более 2-4 дней.

Помещали стаканчики с раствором для демаскировки антигена в водяную баню и нагревали её и раствор для демаскировки до температуры 95-99⁰С. Уровень воды в водяной бане был таким, что стаканчики были погружены в воду на 80% (по высоте). Для стабилизации температуры и во избежание испарения раствора стаканчики закрывали крышками.

Помещали стёкла с депарафинизированными срезами в стаканчики с предварительно нагретым раствором для демаскировки антигена: при этом температура раствора в стаканчиках обычно снижалась до 90⁰С.

Доводили температуру воды в водяной бане и раствора для демаскировки антигена в стаканчиках до 95-99⁰С, проверяли температуру раствора для демаскировки в стаканчиках.

Инкубировали срезы в растворе для демаскировки антигена в течение 10 ± 1 минут при температуре $95-99^{\circ}\text{C}$. Отсчёт времени начинали только после того, как температура раствора для демаскировки в стаканчиках достигнет $95-99^{\circ}\text{C}$.

Извлекали стаканчики со стёклами из водяной бани.

Оставляли стаканчики с раствором для демаскировки антигена и погруженными в него стёклами на 20 ± 1 минут для охлаждения до комнатной температуры.

Сливали раствор для демаскировки антигена и промывали в промывочном буфере в течение 5 минут.

3. Реагент, блокирующий пероксидазу.

Наносили 200 мкл реагента, блокирующего пероксидазу, таким образом, чтобы он полностью покрывал срез, и инкубировали в течение 5 ± 1 минут.

Стряхивали избыточное количество реагента и помещали стёкла в кювету со свежим промывочным буфером на 5 ± 1 минут.

4. Нанесение первичных антител.

Удаляли избыточное количество буфера. Наносили 200 мкл раствора первичных антител таким образом, чтобы он полностью покрывал срез. Инкубировали в течение 30 ± 1 минут. Стряхивали избыточное количество раствора и помещали стёкла в кювету со свежим промывочным буфером на 5 ± 1 минут.

5. Нанесение реагента для визуализации.

Удаляли избыточное количество буфера. Наносили 200 мкл реагента для визуализации так, чтобы он полностью покрывал срез. Инкубировали в течение 30 ± 1 минут. Стряхивали избыточное количество реагента и помещали в кювету со свежим промывочным буфером на 5 ± 1 минут. Повторяли этап промывки дважды в кюветах со свежим промывочным буфером.

6. Раствор субстрата – хромогена [ДАБ].

Наносили 200 мкл раствора субстрата-хромогена (ДАБ), чтобы он полностью покрывал срез. Инкубировали в течение 10 ± 1 минут. Стряхивали избыточное количество раствора и аккуратно промывали стёкла

дистиллированной водой. Собирали материалы, использованные при работе с ДАБ, в контейнер для опасных материалов и утилизировали.

7. Дополнительное окрашивание гематоксилином.

Погружали стёкла в кювету с гематоксилином. Инкубировали в течение 2-5 минут, промывали под водопроводной водой.

8. Заключение срезов.

Для заключения срезов после окрашивания рекомендуется использовать безводную среду. Процедура дегидратации:

- дистиллированная или деионизированная вода,
- 3 минуты в 70% этаноле,
- 3 минуты в 70% этаноле,
- 3 минуты в 96% этаноле,
- 3 минуты в 99% этаноле,
- 5 минут в ксилоле,
- 5 минут в ксилоле.

Характеристика антител, использованных в работе

MMP-9 (992 kDa Collagenase IV) – Rabbit Polyclonal 0.1 ml (Спринг Биосайенс Корпорейшн).

Мышиные моноклональные антитела к CD45 фл. Концентрированный 0,1 мл (Cell Marque Corporation. 6600 Sierra College Park Boulevard Rocklin, Ca 95677 United States).

Мышиные моноклональные антитела к CD15 фл. Концентрированный 0,1 мл (Cell Marque Corporation. 6600 Sierra College Park Boulevard Rocklin, Ca 95677 United States).

Антитела к MMP-1 Matrix Metalloproteinase 1 - Rabbit Polyclonal 0.1 ml (Спринг Биосайенс Корпорейшн)

Антитела PDGFR Rabbit Polyclonal 0.1 ml (Спринг Биосайенс Корпорейшн).

Основные положения, выносимые на защиту

Пациентки с ЭКЯ и без эндометриоза сопоставимы по возрасту, началу менархе, альгодисменорее и перенесенным воспалительным заболеваниям органов малого таза ($p > 0,05$), но отличаются в отношении гиперполименореи ($p = 0,003$).

Для пациенток с ЭКЯ характерен более выраженный спаечный процесс органов малого таза по сравнению с пациентками с бесплодием без эндометриоза (I-II степень, $p = 0,002$; III-IV степень, $p = 0,033$).

Анализ морфометрического исследования свидетельствует о различиях эутопического, эктопического и нормального эндометрия.

Эутопический и эктопический эндометрий характеризуется повышением PDGFR β +клеток, что подтверждает увеличение как ЭМСК, так и стромальных фибробластов при эндометриозе.

Для эктопического эндометрия характерно повышение SSEA-1+клеток (маркера дифференцированных плюрипотентных клеток) и воспаления, подтвержденное усилением экспрессии CD45.

Повышение металлопротеиназ в эутопическом эндометрии по сравнению с нормальным поддерживает мнение о различиях в эндометрии у пациенток с эндометриозом и большей пролиферативной активности эутопического эндометрия по сравнению с нормальным.

После отмены терапии у 24,28% пациенток возникает рецидив эндометриоидных кист яичников при двухлетнем наблюдении после оперативного вмешательства. Частота наступления беременности выше у женщин, принимавших дидрогестерон в послеоперационном периоде (26,7%). Частота наступления рецидива после отмены препаратов значительно меньше у женщин, использовавших гестагены.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Распределение многих биологических характеристик происходит не по нормальному закону распределения [Ланг Т.А., 2011]. Наиболее востребованными описательными характеристиками в медицинских исследованиях следует считать интерквартильную широту (размах) и медиану, а не среднее значение со

стандартным отклонением, так как большинство биологических характеристик не подчиняются нормальному закону распределения.

Оценка медианы с определением 25 % и 75 % процентилей (1-3 квартиль) была проведена для всех количественных признаков в группах сравнения. Медианный критерий и непараметрический критерий Краскала-Уоллиса для независимых выборок использовались для сравнения межгрупповых различий. Проводился непараметрический корреляционный анализ с использованием критерия Спирмена.

С целью визуальной оценки результатов корреляционного анализа использовался пакет Graphviz 2.38, что позволяло более полно дать оценку полученным данным.

Для обработки и анализа исходных признаков были применены: пакет прикладных программ EXCEL 2010, Statistica версия 12.5, SPSS 24.002.

Научно-исследовательская работа проведена в рамках государственных заданий, утвержденных планом Министерства здравоохранения Российской Федерации в период с 2010-2016 гг., стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года, в соответствии с Указом Президента РФ от 07.07.2011 г. №899 «Об утверждении приоритетных направлений развития науки, технологий и техники в Российской Федерации и перечня критических технологий Российской Федерации»; от 07.05.2012 г. №598 «О совершенствовании государственной политики в сфере здравоохранения»; от 07.05.2012 г. №599 «О мерах по реализации государственной политики в области образования и науки», основанной на Прогнозе развития медицинской науки на период до 2025 года, утвержденном Президиумом Российской академии медицинских наук 31.01.2007 г.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.01 – «Акушерство и гинекология» по двум областям исследований: 3. Исследование эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний. 4. Разработка и совершенствование методов диагностики и профилактики

осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний. Оптимизация диспансеризации беременных и гинекологических больных.

Результаты диссертационной работы представлены, обсуждены и одобрены на заседании Ученого совета ФГБУ "РНИИАП" Минздрава России. Материалы научного исследования были представлены на следующих научно-практических мероприятиях: XVI Всероссийский научный форум «Мать и дитя» (Москва 2015 г.); 1st Congress of the Society of Endometriosis and Uterine Disorders (Paris, France, 2015 г.); the 2015 RCOG World Congress (Brisbane, Australia, 2015 г.); VIII Общероссийский семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи 2015 г.); II Международная научно-практическая конференция «Перспективы развития современной медицины» Воронеж 2015 г.); III Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы медицины в России и за рубежом» (Новосибирск, 2016 г.); 2nd Congress of the Society of Endometriosis and Uterine Disorders «Adenomyosis: new vision for old challenge» (Barcelona, Spain, 2016 г.); IX Общероссийский семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2016 г.); II Общероссийская конференция с международным участием «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству» (Санкт-Петербург, 2016 г.); XXIX Международный конгресс с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2016 г.); 13th World congress on endometriosis "turn over a new leaf" (Vancouver, Canada, 2017 г.), Восточно-европейский саммит акушеров, гинекологов и перинатологов (Москва, 2017 г.); Региональная школа РОАГ (Тюмень, 2017 г.); X Общероссийский научно-практический семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2017); Региональная школа РОАГ (Уфа, 2017 г.); Международная научно-практическая конференция «Перинатология в Сибири: достижения и проблемы» (Кемерово, 2017 г.); Всероссийская конференция «Донские сезоны» (Ростов-на-Дону, 2017 г.); Gynecological endocrinology (ISGE), The 18 World congress (7-10 March 2018 Florence, Italy); RCOG World Congress 2018 Singapore 21-24 March.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автору принадлежит основной вклад в выбор темы диссертационной работы, получение, сравнение и резюмирование результатов исследования. Автор непосредственно участвовала во всех этапах проведенной работы, начиная постановкой цели и формулированием задач, заканчивая обобщением и анализом результатов исследования на научных форумах, конференциях и в печатных изданиях. Именно это обуславливает определяющую роль К.А. Арешян в создании представленного научного труда. Разработанные на основании полученных научных результатов исследования клинические рекомендации успешно используются в практической работе отделения гинекологии МБУЗ «Городская больница № 6 г. Ростова-на-Дону (зав. гинекологическим отделением, заслуженный врач РФ Циркунова Н.С.), отделения гинекологии "НИИАП" ФГОУ ВО РостГМУ МЗ РФ (начальник акушерско-гинекологического отдела НИИ акушерства и педиатрии д.м.н., доцент Ермолова Н.В.).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертационного исследования опубликовано 25 печатных работ, в том числе 12 в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией.

ГЛАВА I. ЭНДОМЕТРИОИДНЫЕ КИСТЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Понятие об эндометриозе

Эндометриоз, поражающий до 10% женщин репродуктивного возраста, пожалуй, одно из самых значимых заболеваний в гинекологии. Впервые он был упомянут Karl von Rokitansky в 1860 году [147]. Страдание, связанное с эндометриозом, — это, прежде всего, болевой синдром. Встречается данная патология у порядка 20-50% бесплодных женщин. Но давний интерес ученых к этому заболеванию, обусловленный значимостью процесса, привел к пониманию только отдельных звеньев патогенеза [184]. По мнению К. Khan, тазовая боль и бесплодие, характерные для эндометриоза, связаны с высокой тканевой активностью эндометриоза вследствие избыточного притока инфильтрации очагов макрофагами. Теория метаплазии, подразумевающая трансформацию мезотелиальных клеток, или индукционная теория, основанная на активации целомического эпителия в брюшной полости, могут дать обоснование эндометриозу, диагностируемому только при микроскопическом исследовании визуально неизменной брюшины [93].

Первой гипотезой развития эндометриоза была теория ретроградной менструации, предложенная J.A. Sampson, о забросе эндометриоидных имплантов в брюшную полость во время менструального кровотечения через маточные трубы [169, 91]. Значительно позже, в 2013 году I. Brosens и G. Benagiano для объяснения раннего развития эндометриоза предположили, что первоначально эндометриоидные импланты попадают в брюшную полость при раннем неонатальном кровотечении [76]. Сразу же возникает вопрос, если мы наблюдаем неонатальное кровотечение только у 5% новорожденных [149], то риск развития

эндометриоза должен быть ограничен только этой когортой? На самом деле, колебания гормонального фона после родов вызывают неонатальное маточное кровотечение у всех новорожденных, которое визуально есть у 5% новорожденных девочек. Объяснением этому является анатомическое строение матки новорожденных: соотношение тела матки к шейке составляет $\frac{1}{2}$, что обуславливает заброс менструальной крови в брюшную полость [182]. Поддерживает данную теорию факт выявления эндометриоза до менархе и тяжелых форм эндометриоза у подростков. Стволовые клетки/предшественники эндометрия выявлены в менструальной крови, что является подтверждением предположения может об их распространении во время неонатального маточного кровотечения. В отсутствие эстрогенов до менархе, вероятнее всего, они поддерживаются «нишевыми» клетками, распространяемыми с менструальной кровью совместно со стволовыми клетками. Уже с периода телархе на фоне возрастающего уровня эстрогенов стволовые клетки эндометрия начинают пролиферировать, формируя эктопические очаги эндометриоза [128]. Два базисных классических исследования о разной степени циклических изменений эндометрия 169 новорожденных [149] и описания видимых и скрытых менструальных кровотечений новорожденных [129] подтверждают изложенную выше теорию [76].

Однако невозможно рассматривать эндометриоз без внимания к локальным факторам, формирование эндометриоидных гетеротопий, клиника и прогноз течения заболевания определяются комплексом молекулярно-биологических процессов, составляющих основу пролиферации, апоптоза, инвазии и неоангиогенеза [33].

Матриксные металлопротеиназы (ММП) – это группа схожих по структуре цинксодержащих эндопептидаз, разрушающих базальные мембраны и внеклеточный матрикс при физиологических и патологических условиях [136]. ММП считаются ключевыми эффекторами тканевого ремоделирования. Это белки, экспрессия которых присутствует во всех тканях на различных этапах онтогенеза, регулируется и активируется в условиях интенсивной тканевой

перестройки. Их выработка происходит на поверхности клеток и в межклеточном пространстве. Как полифункциональные белки MMP участвуют в ангиогенезе и апоптозе. MMP могут самостоятельно воздействовать на главные компоненты соединительно-тканного матрикса, имеют огромное влияние на межклеточные взаимодействия, на различные пути передачи сигнала в клетке, способны продуцировать некоторые биологически активные молекулы. При патологических процессах происходит изменение экспрессии и активности MMP, регулирующих транскрипционную активность соответствующих генов, что чаще всего приводит к усилению воспалительной реакции и разрушению тканей [136]. MMP вовлечены в главные процессы патогенеза генитального эндометриоза. Данные ферменты разрушают белки соединительно-тканного матрикса, потенцируют инвазию эндометриоидных гетеротопий в подлежащие ткани [72]. Доказана роль MMP в неоангиогенезе [92,120], за счет чего обеспечивается рост и автономность эндометриоидных очагов.

Идентификация различных металлопротеиназ (MMP-1, MMP-3, MMP-7, MMP-9) путем иммуногистохимического исследования при эндометриозе [168] является не только одним из важных научных направлений, но стремиться быть рутинной практикой.

По мнению В.С. Баранова, активация онкогенов при одновременном подавлении активности генов онкосупрессоров (p53) и растворение межклеточного матрикса вследствие активации генов металлопротеиназ способствуют превращению мезенхимальных стволовых клеток в опухолевые клетки. Важная роль на начальных этапах возникновения и развития эндометриоидных клеток принадлежит также другим генам пролиферации и эмбрионального развития, генам клеточного матрикса, адгезии и миграции, генам гормонов и их рецепторам. Общий генетический вклад в развитие эндометриоза, согласно современным данным, оценивается только в 52%, а 8–9 доказанных генов-кандидатов ассоциированы преимущественно с тяжелыми формами эндометриоидной болезни [10].

Доказана роль MMP 2 и 9 в патогенезе аденомиоза. Усиление их активности в тканях коррелирует с усилением патологической трансформации стромального компонента и миометрия [31]. Отмечен более высокий уровень экспрессии MMP в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим. Кроме того, в эутопическом эндометрии при генитальном эндометриозе повышены уровни MMP-1, -3 и 9 по сравнению с нормальным эндометрием [135, 134]. Результаты исследования матриксных металлопротеиназ в патогенезе эндометриоза помогут обосновать внедрение их ингибиторов в качестве патогенетически обоснованных элементов терапии генитального эндометриоза [11].

1.2 Эндометриоз с точки зрения роли стволовых клеток

С 2007 года в ряде работ выдвинуто предположение о роли стволовых клеток в патогенезе эндометриоза [113, 133]. Но начало пониманию роли стволовых клеток в регенерации эндометрия было положено еще в 1978 году В.А. Прянишниковым, постулировавшим, что в циклической регенерации эндометрия играют роль стволовые клетки [160]. 20 лет спустя клеточные популяции со свойствами стволовых клеток обнаружены на базальной мембране эндометрия [125, 82, 81, 128, 178, 123]. Это открыло новые горизонты в изучении патогенеза эндометриоза [179]. В эндометрии были идентифицированы две популяции стволовых клеток: мезенхимальные стволовые клетки и эпителиальные клетки-предшественники [113]. Позже стволовые клетки выявлены в очагах эндометриоза [87, 83], что привело к убеждению о распространении стволовых клеток эндометрия через маточные трубы в период менструации с последующим формированием эндометриоидных имплантов [164].

Известно, что у порядка 90% женщин происходит ретроградная менструация. Более того, мезенхимальные стволовые клетки эндометрия идентифицированы в большинстве образцов менструальной крови. Но страдает эндометриозом только 6-10% всех женщин. Было высказано первое предположение, что у женщин с эндометриозом в брюшную полость попадает большее количество стволовых клеток [113] за счет большего объема ретроградного кровотечения, или этот процесс более частый, что, однако, это сложно доказать [159]. Второе возможное объяснение основано на том, что фрагменты базального эндометрия в менструальной крови определяются чаще при эндометриозе по сравнению с женщинами без него, способствуя распространению большего количества стволовых клеток в брюшную полость при ретроградном забросе менструальной крови [126]. Возможно, при эндометриозе стволовые клетки мутируют, или происходит альтерация нишевых клеток, их окружающих [159].

Иное предположение связано с тем, что стволовые клетки эндометрия приживаются в перитонеуме с поврежденным иммунным клиренсом, что способствует выживаемости фрагментов эндометрия [187]. Еще больше вопросов существует в отношении изменения экспрессии факторов апоптоза или стероидогенных энзимов, есть различия этих факторов в нишевых клетках, сопровождающих стволовые клетки, и возможно, принимающих участие в их «выживании» и в брюшной полости [159].

Доказательством роли стволовых клеток может служить факт повышенной инвазии в культуре стромальных эндометриальных клетках, полученных от пациенток с эндометриозом [87], подтвержденное, в том числе, верификацией увеличенной экспрессии интегрин [99].

Самообновляющиеся эпителиальные и стромальные колониобразующие единицы (КОЕ, CFU) обнаружены в эндометриоидных кистах яичников. Это также поддерживает значимость стволовых клеток в патогенезе эндометриоза [80]. Однако вопрос о пусковом механизме, способном активировать стволовые клетки в эутопическом и эктопическом эндометриях, остается открытым [138].

Возможно, роль играют генетические и иммунологические факторы, потенцирующие выживание клеток в эктопических очагах [177, 152, 114].

Итак, циклическая регенерация эндометрия зависит от небольшого пула тканеспецифических мультипотентных стволовых клеток [151]. Иным потенциальным ресурсом для клеток эндометрия служит костный мозг. С точки зрения Н.С. Taylor, ежемесячная мобилизация стволовых клеток костного мозга для регенерации эндометрия может быть нормальным физиологическим процессом [181]. Позже Н.С. Taylor выдвинул предположение, что стволовые клетки костного мозга не только участвуют в циклическом восстановлении нормального эндометрия, но и мигрируют, дифференцируясь в эктопические эндометриальные клетки, внося достаточно скромный вклад в этот процесс [93, 142].

Эктопические мезенхимальные клетки стимулируют ангиогенез, обладают большей способностью к инвазии миграции по сравнению с эндотопическими клетками *in vitro* и *in vivo* [99]. Также и мезенхимальные клетки, выделенные из эндометриоидных кист яичников, в культуре клеток обладают повышенной пролиферацией, миграцией и инвазией. Эктопические мезенхимальные клетки экспрессируют большее количество сосудисто-эндотелиального фактора роста (СЭФР) и фактора, индуцированного гипоксией (HIF-1 α , hypoxia-inducible factor) по сравнению с эндотопическими клетками и мезенхимальными клетками нормального эндометрия [174]. HIF-1 α способствует усилению экспрессии СЭФР [109]

Для стволовых клеток характерна экспрессия транскрипционного фактора, связывающего октамер (Oct4-A, octamer-binding transcription factor-4), в мезенхимальных клетках эндометрия [150]. Эктопические и эндотопические стволовые клетки экспрессируют Oct-4 mRNA и имеют дефицит щелевых межклеточных коммуникаций [87]. Существует противоположное мнение, что стволовые клетки эндометрия не обладают экспрессией Oct4-A [174] в противоположность подобным клеткам костного мозга [124]. Но и в отношении стволовых клеток костного мозга есть данные об отсутствии экспрессии Oct-4

[173, 154]. Вероятным объяснением радикально противоположных мнений является наличие изоформ Oct4.

Характерной особенностью стволовых клеток эутопического и эктопического эндометрия и нормальной эндометрии (без эндометриоза) является экспрессия CD105, CD44, CD73 и виментина. Кроме того, они способны к остеогенной и эпителиальной дифференцировке подобно клеткам костного мозга [88]. Помимо этого, они экспрессируют SSEA-1 (stage-specific embryonic antigen, стадийспецифический эмбриональный антиген) [88] и транскрипционные факторы-Мус (ген-регулятор) и Klf-4 (Kruppel like factor, семейство Kruppel факторов транскрипции), но не Oct4-A [79].

При эндометриозе инвазия и пролиферация повышены также и в эндометриальных клетках [87, 99].

Характерное возрастание СЭФР возможно связано либо с усилением ангиогенеза в эндометриоидных очагах [139, 138], или с изменением фенотипа стволовых клеток под воздействием внешней среды [174,118].

В функциональном и базальном слоях эндометрия обнаружены стволовые мезенхимальные клетки (эмСК), экспрессирующие одновременно CD146 и PDGFR- β (platelet-derived growth factor receptor beta, рецептор тромбоцитарного фактора роста), определяются в обоих этих слоях [170]. Эндометриальные регенерирующие клетки (endometrial regenerative cells, ERC) фенотипически идентичны мезенхимальным клеткам эндометрия и костного мозга, экспрессируют CD9, CD44, CD29, CD73, CD90 и CD105, но не имеют гемопоэтических маркеров CD34, CD45 и CD133 [100]. Аналогично мезенхимальным стволовым клеткам в эутопическом и эктопическом эндометриях [108] ERC экспрессирует Oct-4, c-KIT и специфический эмбриональный антиген SSEA-1, но не STRO-1 [100, 154]. ERC обладают способностью к повышенной выработке проангиогенных факторов и металлопротеаз при сопоставлении с другими мезенхимальными стволовыми клетками. Подтвержденный в научных исследованиях потенциал менструальных

ERC генерировать ткани различной локализации [140, 141, 148] подтверждает их роль в патогенезе эндометриоза брюшной полости [159].

Итак, классическая теория эндометриоза Sampson базируется на попадании клеток эндометрия во время ретроградной менструации [169]. С позиции теории стволовых клеток можно объяснить, почему 90% женщин имеют ретроградную менструацию [167], а эндометриоз развивается при этом только у 6-10% женщин. В подтверждении гипотезы о большем количестве поступающих в брюшную полость эндометриальных клеток [113] было исследование, установившее, что W5C5⁺мезенхимальные клетки представлены в большей концентрации в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом в период менструации по сравнению со здоровыми женщинами [101].

Еще одним вариантом объяснения может быть наличие большего объема забрасываемой менструальной крови или более частая ретроградная менструация. Хотя подобное предположение с ложно доказуемо [159], на бабуинах продемонстрировано, что увеличение количества ретроградной менструации ведет к повышению частоты эндометриоза [91]. Еще одним доказательством данного утверждения является факт наличия фрагментов базального эндометрия в менструальной крови женщин с эндометриозом [71].

Неизвестно, каким образом стволовые клетки изменяют экспрессию факторов апоптоза или стероидогенных энзимов. Возможно, эти изменения затрагивают нишевые клетки, спутники стволовых клеток, “поддерживающие” их в брюшной полости [159]. Повышенный уровень СЭФР в поздней секреторной фазе при эндометриозе [97] может создавать предпосылки для проимплантационного и проангиогенного статуса. Добавление в культуру эктопических стромальных клеток эндометрия ингибитора СЭФР уменьшает их пролиферацию, миграцию и инвазию до уровня аутопических клеток [174, 98]. Локальные цитокины и гормоны влияют на экспрессию связанных со стволовыми клетками паттернов генов, например, *Mussashi-1*, в эндометриоидных очагах [110, 126].

Доказано, что менструальная кровь содержит микст эндометриальных клеток в различных стадиях развития [103]. Так, цитокератин-позитивные/Е-кадхерин-негативные клетки могут рассматриваться как менее дифференцированные по сравнению с цитокератин-позитивными/Е-кадхерин-позитивными эпителиальными клетками. Изменение этих клеток в очагах способствует эволюции эндометриоза и формированию «вторичных» очагов. С. Gargett было высказано предположение, что тяжесть или стадия эндометриоза может быть связана с тем, насколько примитивны клетки, инициирующие развитие очагов [159].

Дальнейшее изучение роли стволовых клеток в патогенезе эндометриоза вселяет надежду на получение патогенетически обоснованной терапии этого заболевания.

1.3 Современные представления об эндометриоидных кистах яичников

Одной из наиболее часто встречающихся форм генитального эндометриоза является эндометриоз яичников [47].

Особое место эндометриоза яичников обусловлено рядом причин. Во-первых, в структуре всех локализаций эндометриоидных гетеротопий эндометриоз яичников стабильно занимает первое место. Во-вторых, есть мнение о том, что эндометриоз яичников играет ведущую роль в генерализации патологического процесса: вероятно, очаги, локализующиеся в яичнике и распространяющиеся на соседние органы и окружающую брюшину, потенцируют не только развитие глубокого инфильтративного эндометриоза, но и спаечного процесса малого таза [12].

Диагноз эндометриоза можно предполагать при различных сочетаниях следующих симптомов - дисменореи, ациклических тазовых болях, диспареунии, бесплодии и утомляемости, а также дисшезии, дизурии, гематурии и ректальном кровотечении, болях в плечах у женщин репродуктивного возраста. Двуручное и ультразвуковое исследования (УЗИ), а также лапароскопия с гистологическим исследованием остаются методами диагностики ЭК [110]. Идентифицированы более сывороточных 100 маркеров эндометриоза [137]. В связи с недостаточной специфичностью они не рекомендуются в рутинной клинической практике [104]. Согласно рекомендациям ESHRE, не показано определение биологических маркеров в эндометрии или менструальной крови и/или иммунологических маркеров, в том числе СА-125, в периферической крови для верификации эндометриоза [110].

Диагноз эндометриозидных кист яичников (ЭКЯ) основан на клинической картине и патоморфологической верификации. Еще в 1991 году P. Vercellini описал критерии ЭК, как-то: размер не более 12 см, наличие спаечного процесса на тазовой стенке или широкой связке, многочисленные синие или красные папулезные высыпания на поверхности брюшины и яичников и дегтеобразная шоколадного цвета жидкость в кистах [165]. Согласно мнению P. Viganò, не всегда эндометриомы соответствуют этим критериям: высыпания могут не быть представлены, содержимое кисты может быть прозрачно-желтым [186]. Не все исследователи могут найти эндометриальный эпителий, железы или строму на стенке кист. Эндометриозидная ткань может покрывать внутреннюю поверхность кисты в пределах 10-98% (в среднем в 60%). Средняя толщина стенки составляет 1,4 мм [121].

Дискутабельным остается вопрос о размерах ЭКЯ, требующих оперативного лечения. В послеоперационном периоде желательна оценка овариального резерва. Возможными вариантами могут быть: исследование фолликулостимулирующего гормона на 3-й день менструального цикла, подсчет количество антральных фолликулов при ультразвуковом исследовании и определение уровня анти-Мюллера гормона (АМГ). Уровень последнего не

связан с днем менструального цикла и не меняется на фоне приема комбинированных оральных контрацептивов [94]. Однако окончательных убедительных данных в пользу использования АМГ в послеоперационном периоде нет. По мнению одних авторов, он снижается после операции, но позже происходит нормализация его уровня [144], другие считают, что его значения не меняются [71]. Поэтому нет уверенности, что АМГ является лучшим предиктором для определения резерва яичников после оперативного вмешательства, чем количество антральных фолликулов [144].

В Иране [127] и России [69] национальные руководства рекомендуют не выполнять оперативное вмешательство при размерах ЭКЯ менее 4 см особенно при сниженном овариальном резерве. В Китае оперативное вмешательство выполняется при диаметре кист более 5 см [87]. ESHRE рекомендует оперировать кисты более 4 см. Во Франции показанием для операции расценивают размер кист более 6 см [89].

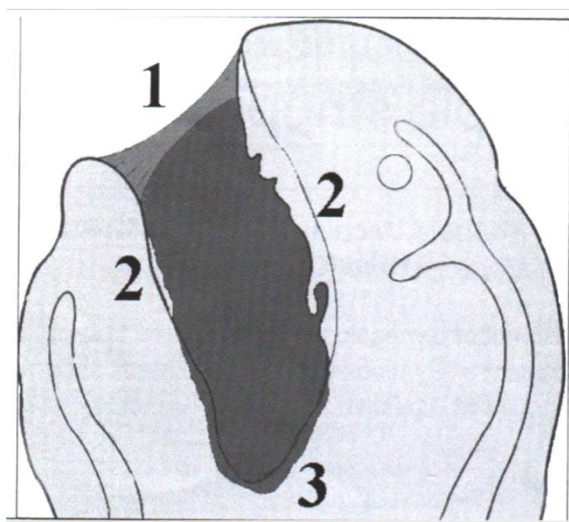
В связи с большой вероятностью повреждения овариального резерва во время оперативного вмешательства ESHRE не рекомендует оперировать ЭКЯ до программы экстракорпорального оплодотворения [110]. Если решение об необходимости оперативного лечения предпринято, то цистэктомия кист более 3 см с использованием лапароскопического доступа предпочтительнее для наступления беременности по отношению к дренированию или вапоризации [107].

По мнению F.M. Ubaldi, оперативное вмешательство по поводу кист менее 5 см показано только после исключения иных факторов бесплодия у женщин моложе 35 лет с достаточным овариальным резервом. У пациенток после 35 лет с мужским и/или трубным факторами стоит отдать предпочтение программе ЭКО в случаях отсутствия болевого синдрома, беспокойности по поводу возможной злокачественности опухоли, подкрута ножки кисты или ее разрыва [185].

1.4 Оперативное лечение эндометриоидных кист яичников

Очень важным вопросом является техника оперативного вмешательства по поводу эндометриоидных кист яичников. Опыт последнего десятилетия привел к убеждению, что для минимизации травмы паренхимы яичников во время удаления кисты нужна щадящая лапароскопическая техника [53,130].

Для понимания основ этой техники необходимо знать особенности строения и локализации эндометриоидных кист яичников, состоящих из 3 зон (Рисунок 1) [130].



Примечания:

1 - зона адгезий

2 - активная ткань

3 - фиброидная ткань

Рисунок 1 - Три зоны эндометриоидной кисты яичника

1-я зона (Рисунок 1) обычно интимно подпаяна к заднему листку широкой связки в области подъяичниковой ямки. 2-я зона с «активной» эндометриоидной тканью и с незначительным количеством фиброидной ткани. 3-я зона — область интенсивного фиброза, именно в этом месте хирург встречается с трудностями при отделении капсулы кисты от здоровой яичниковой ткани.

В 2011 году W. Kondo с соавторами обосновали бережную технику хирургического удаления ЭКЯ лапароскопическим доступом. По мнению авторов, ЭКЯ в 95% случаев сопровождаются спаечным процессом. При выделении подпаянного яичника киста вскрывается. Бережный овариолизис проводится под непрерывным визуальным контролем по задней поверхности яичника близко к воронко-тазовой связке во избежание повреждения ворот яичника. Далее показано промывание брюшной полости с аспирацией. При осмотре внутренней поверхности кисты необходимо исключить визуальные признаки малигнизации. Далее определяется область вскрытия кисты, которая расширяется или рассекается с помощью ножниц. Нет необходимости вскрывать капсулы кисту в другом месте.

Далее зажим располагают между стенкой кисты и здоровой тканью яичника максимально близко к бессосудистой зоне ЭКЯ во избежание повреждения паренхимы яичника (Рисунок 2). Этим достигается минимизации кровопотери.

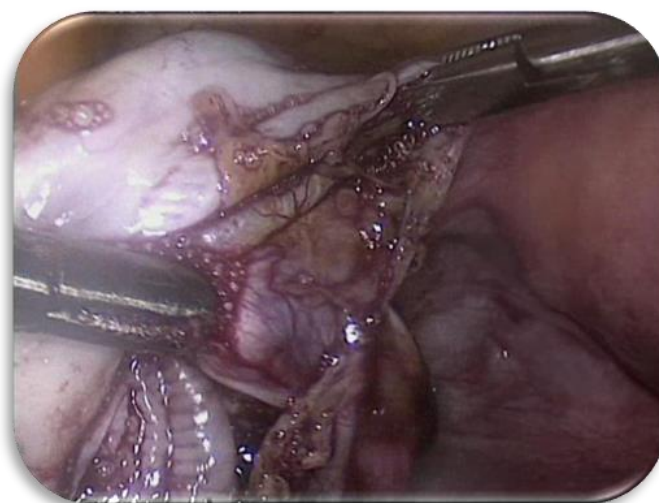


Рисунок 2 - Отделение капсулы кисты от здоровой ткани яичника

Основные трудности возникают при цистэктомии на этапе рассечения красных волокон капсулы. Простая тракция не может применяться в этом случае, поскольку фиброзная ткань достаточно плотная. Техника «stripping» («раздевания»), приводящая к кровотечению, на этом этапе не используется. Проводится коагуляция красноватых фибриновых волокон на наружной поверхности капсулы яичника, именно максимально близко к поверхности кисты во избежание распространения тепла на здоровую ткань яичника. Красные

волокна можно идентифицировать как «стрелки», формирующие треугольник с вершиной у наружной поверхности кисты и основанием на неповрежденной ткани яичника. «Стрелки» пересекаются на верхушке треугольника, при этом необходимо избегать повреждения основания треугольника (Рисунок 3).

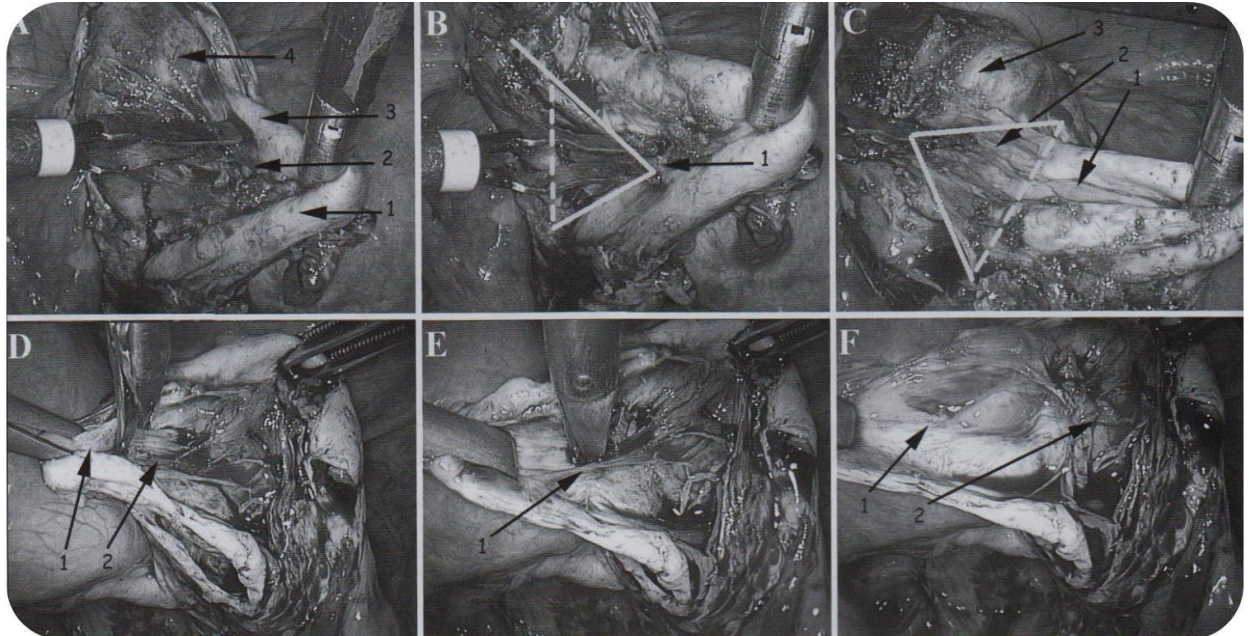


Рисунок 3 - Различные варианты цистэктомии






(А) Два шага десекции: (1) зона легкой десекции с белой поверхностью, (2) зона трудного удаления — красноватых волокон, (3) стенка эндометриоидной кисты, (4) нормальная паренхима яичников. (В) красные волокна коагулированы и пересечены на поверхности капсулы кисты. Коагуляция показана на треугольнике (1). (С) (1) белая поверхность капсулы, (2) красные волокна отсепарованы от кисты, (3) паренхима яичника. (D) повторно два шага десекции: (1) зона легкой десекции выглядит как небольшая часть кисты в этом случае, (2) зона сложного удаления, где красные волокна представлены на поверхности кисты. (Е) красные волокна выглядят как стрелки (1), они должны быть рассечены на поверхности кисты. (F) (1) эндометриоидная поверхность белого цвета, гемостаз выполнен правильно, (2) красные волокна смещены далеко от поверхности кисты [130].

Обычно гемостаз на внутренней поверхности ЭКЯ происходит спонтанно. В противном случае выполняется с использованием биполярной коагуляции. Однако необходимо помнить, что последняя может повредить овариальный резерв. Поэтому при отсутствии кровотечения она не требуется [130]. Существует

мнение [76, 90], что ушивание яичника с целью остановки кровотечения предпочтительнее по сравнению с коагуляцией. Однако сам по себе шов является фактором формирования послеоперационных спаек [130, 53, 38]. W. Kondo убежден в преимуществе удаления капсулы кисты через центральный троакар с использованием endobag [130].

Для определения степени распространения наружного генитального эндометриоза (НГЭ) в 1979 г. Американским обществом фертильности (R-AFS) предложена классификация, пересмотренная в 1985-86 годах. При всей ее доступности для широкого применения она не проливает свет на возможный прогноз наступления беременности после оперативного вмешательства. И это основной ее недостаток. В 2010 году David Adamson предложена новая шкала определения индекса фертильности при эндометриозе, предложенная [68, 34] (Таблица 3 и 4; Рисунок 4).

Таблица 3 - Индекс фертильности при эндометриозе (хирургическая форма)

Балл	Описание		Слева	Справа
4	Норма	Фаллопиева труба		
3	Незначительная дисфункция	Фимбрии		
2	Умеренная дисфункция	Яичник		
1	Тяжелая дисфункция			
0	Отсутствие или не функционирует	Самый низкий балл	 +	 - 
			Слева Справа низший балл	

Примечание - для подсчета самого низкого балла, нужно сложить самые низкие баллы с правой и левой сторон. Если яичник отсутствует, то на стороне имеющегося яичника балл удваивается

Таблица 4 - Индекс фертильности при эндометриозе

Анамнестические факторы			Хирургические факторы			
Фактор	Описание	Баллы	Фактор	Описание	Баллы	
1	2	3	4	5	6	
1	2	3	4	5	6	
Возраст	≤35 лет	2	Наименьшая функция	Если сумма баллов 7- 8 [высокий уровень]	3	
	36-39лет	1		Если сумма баллов 4-6 [средний уровень]		2
	≥40 лет	0		Если сумма баллов 1- 3 [низкий уровень]		0
			AFS* подсчет для эндометриоза	Если <16	1	
				Если ≥16	0	
	Продолжительность бесплодия	≤3 лет	2	Общий балл AFS	Если общий балл < 71	1
>3 лет		0	Если общий балл ≥ 71		0	
предыдущие беременности	Беременность в анамнезе	1				
	Отсутствие беременности в анамнезе	0				
Подсчет индекса фертильности при эндометриозе:						
[]		+	[]		= []	

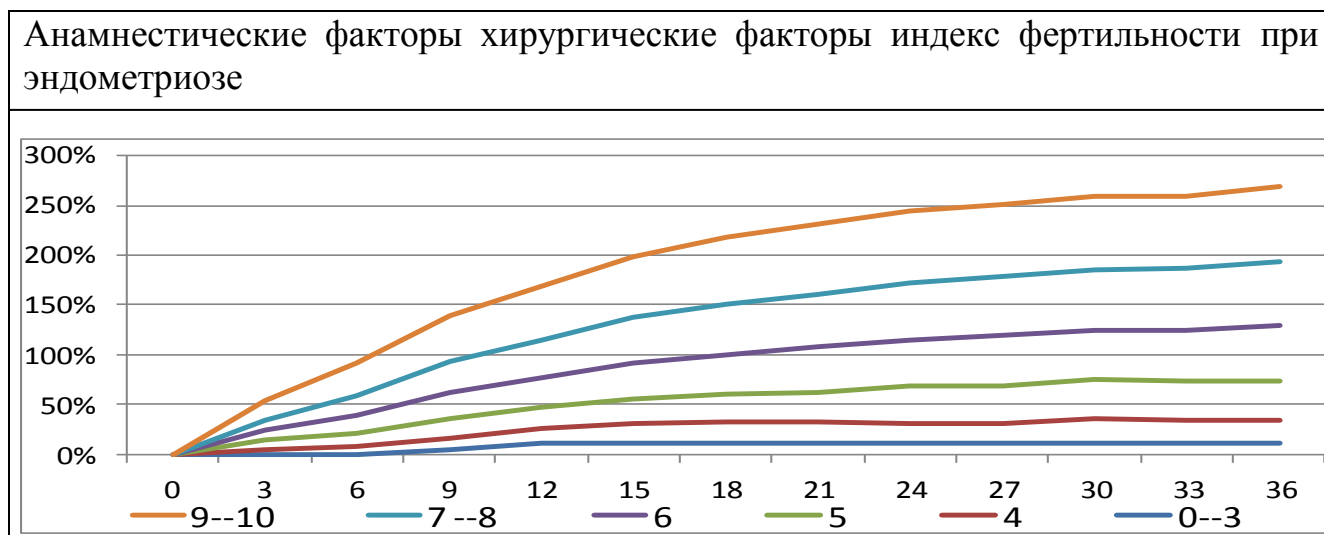


Рисунок 4 - Частота наступления беременности в зависимости от оценки по шкале индекса фертильности при эндометриозе

Ни одна подобная шкала несовершенна. Немаловажную роль играет квалификация хирурга. Кроме того, шкала, в принципе, основана на субъективизме хирурга. Однако несомненна польза шкалы в определении последующей после операции тактики ведения пациентки для преодоления бесплодия.

Как правило, любое хирургическое вмешательство способствует процессу спайкообразования в послеоперационном периоде, последствием чего является нарушение расположения органов, снижение фертильности и болевой синдром. Плотные, затрагивающие кишечник и придатки спайки de novo образуются в 58% у пациенток с эндометриозом после операции с их рассечением [132]. Из 4-х возможных методов удаления ЭКЯ, как клиновидная резекция, stripping метод, дренирование и абляция с помощью CO₂ лазера, максимально «содействует» спайкообразованию с вовлечением яичник и маточной трубы клиновидная резекция [34]. Сравнение действия разных противоспаечных барьеров выявило, что окисленная регенерированная целлюлоза (Interceed), вспененный политетрафторэтилен (Gore-Tex) и карбоксиметилцеллюлоза (Seprafilm) способны снизить вероятность развития спаечного процесса [73]. Однако большая часть доказательств эффективности данных препаратов является некачественной [131].

Недавняя публикация говорит о послеоперационных осложнениях у пациенток после использования противоспаечных барьеров. Т. Tulandi (университет Макгилла, Канада) в 2015 году сделал доступным в печати анализ случаев применения противоспаечных барьеров. Итогом работы явилось свидетельство очевидности повышения числа случаев лихорадки и обструкции тонкого кишечника при использовании барьеров [180].

Универсальным средством, влияющим на соединительную ткань, является фермент гиалуронидаза. Она способствует деполимеризации гликозаминогликанов, формирующих матрикс фиброзной ткани. Но нативный фермент быстро инактивируется тканевыми ингибиторами, при этом имеет противовоспалительные свойства, что ограничивает возможности его клинического использования. Эти недостатки фермента преодолены в современном препарате Лонгидаза [34].

Частота рецидивирования ЭК после хирургического лечения достаточна высока: в 15% случаев – через год после операции, в 25% – через 4 года, в 36% – через 5 лет и в 50% случаев – через 7 лет [63]. В последующие за оперативным вмешательством 2-5 лет при отказе от гормональной терапии рецидив происходит в 12-50% [164].

На сегодняшний день предупреждением рецидива ЭКЯ может быть назначение гормональной терапии [189, 86, 119].

Эксперты EHRE подчеркивают, что выбор терапии должен быть индивидуальным, лечение должно быть обсуждено с пациенткой с объяснением всех за и против назначаемой терапии [110].

Резюме

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о неясности, спорности и недостаточной изученности многих вопросов, связанных с ранней клинической диагностикой, морфофункциональной оценкой, причинах частого рецидива заболевания ЭКЯ. Необходимость дальнейшего изучения патогенеза процесса и особенностей клиники ЭКЯ актуальна для решения вопросов рациональной лечебной тактики, профилактики и прогнозирования рецидивов

эндометриоидных образований яичников. Все это обуславливает актуальность настоящего исследования.

ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОК ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

Для изучения механизма формирования эндометриоидных кист яичников были обследованы 94 пациентки. Объектом исследования были 70 (74,46%) пациенток с эндометриоидными кистами яичников (I группа) и 24 (25,53%) пациентки с бесплодием без эндометриоза (II группа, сравнения), проходивших обследование и лечение в отделении гинекологии Ростовского института акушерства и педиатрии с 2014 по 2017 гг. Приведенные результаты исследования получены в соответствии с требованиями п.3 ст.6 действующего Федерального закона РФ 152-ФЗ «О персональных данных» (<http://www.gosminzdrav.ru>).

Анализ клинических проявлений заболевания и лабораторных исследований проведен у всех пациенток, включенных в исследование.

Возраст пациенток колебался от 24 до 38 лет. Средний возраст обследованных женщин в I группе составил 29 ± 6 лет, во II группе – $30,3 \pm 4,4$ лет ($p=0,08$).

Средний возраст менархе у обследованных первой группы составил $12,9 \pm 1,2$ лет со средней продолжительностью при сохраненном менструального цикле $28,6 \pm 2,5$ дня. Возраст наступления менархе во второй группе - $13,3 \pm 1,2$ лет с длительностью менструального цикла $30,6 \pm 1,5$ дня. Указанные параметры у женщин обеих когорт статистически значимых различий не имели ($p=0,26$) (Таблица 5).

Таблица 5 – Возраст наступления менархе в исследуемых группах

Характеристика менструальной функции	I группа (N=70)	II группа (N=24)	Уровень значимости (критерий χ^2)
Возраст менархе	$12,9 \pm 1,2$	$13,3 \pm 1,2$	$p=0,26$

Продолжительность менструального цикла в группах составила в I группе $28,6 \pm 2,5$ дне, во II группе – $30,6 \pm 1,5$ дней ($p=0,18$).

Жалобы на альгоменорею в I группе предъявляли 45 (64,29%) женщин, во II группе – 14 (58,33%). Гиперполименорея в I группе встречалась у 25 (35,71%) женщин, во II группе – у 1 (4,17%) пациентки (Таблица 6).

Таблица 6 - Характеристика нарушений менструального цикла в исследуемых группах

	I группа		II группа		Уровень значимости [критерий χ^2]
	абс.	%	абс.	%	
Альгоменорея	45	64,29	14	58,33	$p=0,6$
Гиперполименорея	25	35,71	1	4,17	$p=0,003^*$

Примечание – * – различия между группами достоверны при $p < 0,05$, критерий χ^2

В I группе из 70 обследованных женщин у 48 (68,57%) было диагностировано первичное бесплодие, а у 15 пациенток (21,43%) – вторичное. Во II группе диагноз первичного бесплодия был поставлен 19 пациенткам (79,17%) ($p=0,32$), вторичным бесплодием страдали 5 (20,83%) наблюдаемых пациенток ($p=0,95$). Медицинские аборт в анамнезе у женщин I группы были зарегистрированы в 14,3% (10 случаев), в группе сравнения – 12,5% (3 пациентки) ($p=0,08$).

Дисплазия эпителия шейки матки в I группе отмечена у 35 (50%) пациенток, во II группе – у 4 (16,7%), $p=0,005$ (Таблица 7).

Из сопутствующей гинекологической патологии миома матки у женщин I группы встречалась в 17,1% (12 пациенток), в группе сравнения в 2 случаях (8,3%) без значимых различий ($p=0,30$). (Таблица 7). Средние размеры миоматозных узлов составили $3,9 \pm 1,4$ см. Миомэктомия выполнялась по показаниям лапароскопическим доступом.

Хронические воспалительные заболевания органов малого таза в I группе в анамнезе были у 15 (21,4%) пациенток, во II – у 9 (37,7%) без достоверных отличий между группами ($p=0,12$) (Таблица 7).

Таблица 7 - Структура гинекологических заболеваний в исследуемых группах

Нозология	Клинические группы				P
	I группа [n=70]		II группа [n=24]		
	Абс.	%	Абс.	%	
Дисплазия шейки матки	35	50	4	16,7	0,005*
Миома матки	12	17,1	2	8,3	0,30
Хронические воспалительные процессы женских половых органов	15	21,4	9	37,5	0,12

Примечание - * - различия между группами достоверны при $p < 0,05$, критерий χ^2

Помимо лапароскопии всем пациенткам в обеих группах была выполнена гистероскопия. По результатам полученных гистологических анализов в I группе выявлена простая гиперплазия эндометрия без атипии.

У 13 пациенток II группы спаечный процесс в брюшной полости не был выявлен. У 11 (45,83%) пациентки диагностирован спаечный процесс III-IV степени. У пациенток с эндометриозом спаечный процесс II степени был в 21 (30%) случае, в значительно большей степени у 49 (70%) пациенток спаечная болезнь была III-IV степени (Таблица 8).

Таблица 8 - Степень спаечного процесса в исследуемых группах

Спаечный процесс	Клинические группы				P
	I группа [n=70]		II группа [n=24]		
	Абс.	%	Абс.	%	
I-II степени	21	30%	0	0	$p=0,003^*$
III-IV степени	49	70%	11	45,83%	$p=0,03^*$

Примечание - * - различия между группами достоверны при $p < 0,05$, критерий χ^2

У всех больных I группы диагноз эндометриoidных кист яичников впервые был поставлен при выполнении ультразвукового исследования (УЗИ) органов малого таза. Средний размер образований составил $5,68 \pm 2,07$ см.

Всем женщинам было проведено хирургическое лечение, заключающееся в удалении ЭКЯ методом «раздевания» (stripping) с последующей коагуляцией ложа образования [52].

У всех пациенток I группы эндометриoidные кисты были выявлены впервые.

У пациенток с ЭКЯ в 100% была III-IV степень распространения эндометриоза согласно шкале подсчета Американского общества фертильности, r-AFS [1996].

Помимо эндометриом яичников у всех пациенток в I группе были обнаружены эндометриoidные гетеротопии на маточных трубах и брюшине.

У большинства пациенток I группы встречалось одностороннее эндометриoidное поражение левого или правого яичника практически с одинаковой частотой. ЭКЯ правых придатков наблюдалось у 27 (38,6%) пациенток в I группе. Поражение левого яичника зарегистрировано у 37,1% случаев (26 пациенток). Двусторонние ЭКЯ диагностированы у 17 (24,3%) женщин I группы (Таблица 9).

Таблица 9 - Частота встречаемости ЭКЯ

I группа [n=70]	Правый яичник		Левый яичник		Оба	
	Абс	%	абс.	%	абс.	%
	27	38,6 %	26	37,1%	17	24,3 %

До оперативного вмешательства кисты при выявлении кисты пациенток наблюдали 2-3 месяца. Терапия не назначалась.

Оперативное вмешательство в обеих группах выполнено без осложнений. Послеоперационный период протекал без особенностей, пациентки обеих групп выписаны на 5 сутки.

Проспективный анализ показал, что после отмены противорецидивной терапии в послеоперационном периоде рецидив наступал в течение $9,5 \pm 6$

месяцев. Терапия назначалась у всех пациенток I группы на 3 месяца в послеоперационном периоде. У пациенток, принимавших агонисты, (20 (28,6 %)) беременность наступила у 4 (5,71%) через 3-4 месяца после отмены. Рецидив отмечен у 4 (20%) через $11 \pm 5,5$ месяцев. У женщин, использовавших диеногест, (29 (41,43%)) беременность при наблюдении в течение года не наступила. Рецидив отмечен у 1 (6,89 %) через 9 месяца. В группе женщин, которые применяли комбинированные оральные контрацептивы, (6 (8,57%)) желанная беременность наступила у одной пациентки через 2 месяца после отмены, рецидив – у 1 (16,67%) через 8,5 месяцев. В группе пациенток, принимавших дидрогестерон с 5 по 25 день менструального цикла в течение 3 месяцев с переходом на использование с 16 по 25 день менструального цикла, (15 (21,4%)) рецидив не был отмечен, беременность наступила у 4 женщин (26,67%) (Таблица 10, 11). Под рецидивом подразумевался очаг эндометриоза, верифицированный при ультразвуковом исследовании, размерами более 1 см. Оперативное лечение выполнялось при размерах образования от 4 см. Повторно было прооперировано 3 пациентки – 2 после приема агонистов и одна после приема КОК.

Таблица 10 - Результаты проспективного наблюдения (частота наступления беременность)

агонисты (1)*			диеногест (2)*			КОК (3)*	дидрогестерон (4)*
4 (5,71%)			0 (0%)			1 [16,67%]	4 [26,67%]
p**1/2	p1/3	p1/4	p2/3	p2/4	p3/4		
0,02	0,04	0,0001	0,0004	0,03	0,15		

*Примечание – цифрами обозначены подгруппы согласно приему препаратов, в послеоперационном периоде в I группе для сравнения между собой

** Примечание – результаты сравнения между подгруппами

Таблица 11 - Результаты проспективного наблюдения (рецидив)

агонисты (1)*	диеногест (2)	КОК (3)	дидрогестерон (4)
4 (20%)	1 (6,89%)	6 (8,57%)	0 (0%)

p**1/2	p1/3	p1/4	p2/3	p2/4	p3/4
0,02	0,6	0,0001	0,07	0,03	0,0004

*Примечание – цифрами обозначены подгруппы согласно приему препаратов, в послеоперационном периоде в I группе для сравнения между собой

** Примечание – результаты сравнения между подгруппами

Резюме

Клинико-anamnestическая оценка группы с эндометриоидными кистами яичников и без эндометриоза продемонстрировала отсутствие различий между группами по возрасту, началу менархе, продолжительности менструального цикла и альгодисменорее ($p=0,6$). Статистически значимые различия были выявлены в отношении гиперполименореи ($p=0,003$).

Анализ репродуктивной функции пациенток с ЭКЯ и пациенток без эндометриоза статистически достоверных различий не выявил. Объяснением этому может быть тот факт, что лапароскопия у пациенток II группы выполнялась в связи с наличием бесплодия (первичного и вторичного).

Идентичным в группах было указание на перенесенный воспалительный процесс органов малого таза.

Статистически значимых различий в отношении миомы матки в исследуемых группах получено не было ($p=0,30$). Дисплазия шейки матки значимо чаще встречается у пациенток с эндометриозом по сравнению с отсутствием такого. Для пациенток с эндометриозом наличие гиперпластического процесса является вполне очевидным. Что касается эндометриоидных кист, то они регистрировались практически с одинаковой частотой как в правом (38,6%), так и в левом (37,1%) яичниках. Двусторонние ЭКЯ диагностированы у 17 (24,3%) женщин I группы.

Таким образом, анализ клинических данных пациенток с эндометриозом подтвердил тенденцию к гиперполименорее по сравнению с пациентками без эндометриоза, а также выраженность спаечного процесса за счет эндометриоза.

В связи с небольшим количеством пациенток сложно делать глобальные выводы о времени и сроках наступления беременности после отмены препаратов.

Кроме того, здесь играет роль множество других факторов таких, как оценка спермограммы, иммунологической совместимости и т.д., которые мы не учитывали, поскольку это не входило в задачи исследования. Тем не менее, в исследуемой когорте выявлены различия свидетельствуют о преимуществах использования гестагенов в послеоперационном периоде.

Одним их самых важных клинических выводов диссертации является тот факт, что после отмены противорецидивных препаратов рецидив ЭКЯ может наступить независимо от предшествующей терапии. Это лишний раз убеждает нас в необходимости пролонгирования противорецидивной терапии до того момента, как пациентка поставит вопрос о беременности. К тому результату, что в нашем исследовании не было рецидивов после использования дидрогестерона, следует относиться с осторожностью в связи с небольшой выборкой пациенток в исследовании. Это же относится и к рецидиву и частоте наступления беременности после КОК. Однако, даже в исследуемой небольшой когорте женщин прослеживается тенденция меньшему количеству рецидивов после использования гестагенов и большей частоте наступления беременности на фоне дидрогестерона во вторую фазу менструального цикла.

Однако, здесь возникает много нерешенных вопросов: поскольку препараты типа агонистов нельзя использовать дольше года даже с add-back терапией, диеногест необратимо снижает плотность костной ткани через два года после приема [95], а дидрогестерон в рекомендуемых дозировках не обладает контрацептивным действием. Вопросы о назначении комбинированных оральных контрацептивов не менее спорные, поскольку входящие в их состав эстрогены значительно превышают физиологическую дозировку, что потенцирует «выживание» очагов эндометриоза.

ГЛАВА 3. МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК ЭУТОПИЧЕСКОГО И ЭУТОПИЧЕСКОГО ПРИ ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ КИСТАХ ЯИЧНИКОВ, А ТАКЖЕ ЭУТОПИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИЯ БЕЗ ЭНДОМЕТРИОЗА

3.1. Результаты морфометрического исследования

Морфометрическая оценка клеток эутопического эндометрия выявила, что у пациенток с эндометриозами по сравнению с пациентками без эндометриоза толщина цитоплазматической мембраны и толщина железы достоверно ниже, а площадь ядра и толщина ядерной мембраны статистически значимо выше (Таблица 12; Рисунки 5-14).

Таблица 12 - Морфометрические показатели клеток эутопического эндометрия и нормального эндометрия

Показатели	Пациентки с эндометриозом [n=70]	Пациентки без эндометриоза [n=24]	p*
	M, интерквартильный интервал		
Площадь ядра, мкм ²	0,00005 [0,00003÷0,00006]	0,00004 [0,00003÷0,00005]	0,08
Толщина секреторной части клетки, мкм	0,01 [0,01÷0,01]	0,01 [0,01÷0,01]	0,384
Радиус ядра, мкм	0,0008 [0,0007÷0,0008]	0,0009 [0,0007÷0,0009]	0,48
Толщина железы, мкм	0,02 [0,02÷0,03]	0,03 [0,02÷0,03]	0,037*
Толщина цитоплазматической мембраны, мкм	0,0008 [0,0006÷0,0010]	0,0010 [0,0009÷0,0010]	0,005*
Толщина ядерной мембраны, мкм	0,0007 [0,0006÷0,0008]	0,0006 [0,0005÷0,0006]	0,001*

Средняя яркость	44,56 [37,74÷48,48]	42,45 [40,51÷43,75]	0,453
Средняя плотность	0,37 [0,33÷0,45]	0,38 [0,36÷0,40]	0,788

Примечания:

1 М – медиана, интерквартильный интервал

2 * - различия между группами достоверны при $p < 0,05$

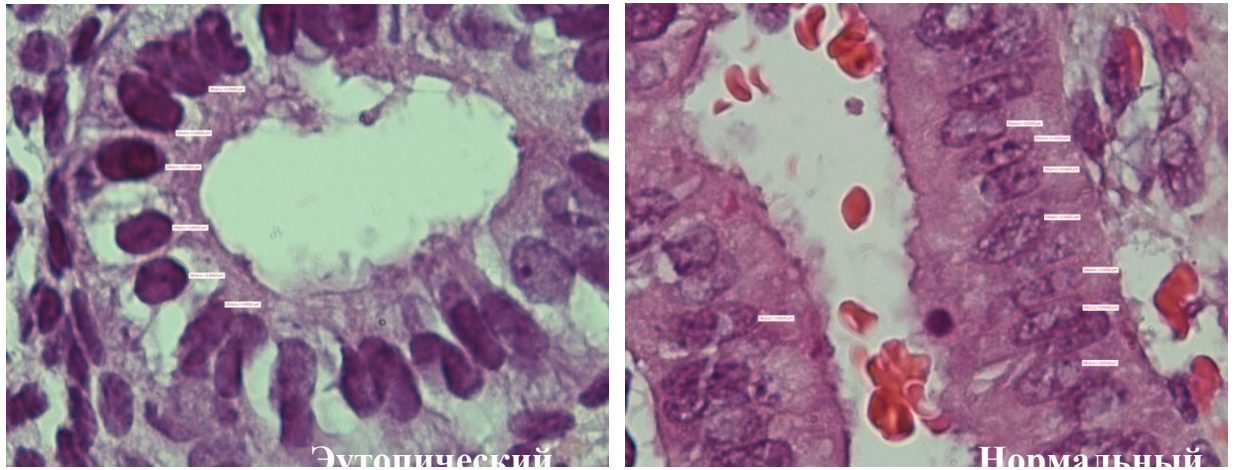


Рисунок 5 - Сравнение площади ядра в клетках эутопического и нормального эндометрия

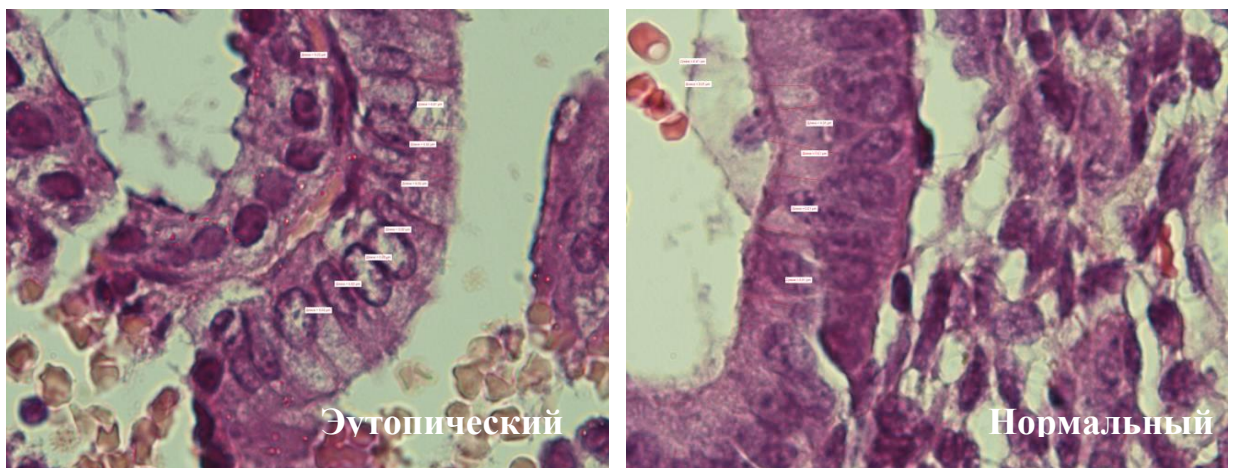


Рисунок 6 - Сравнение секреторной части в клетках эутопического и нормального эндометрия

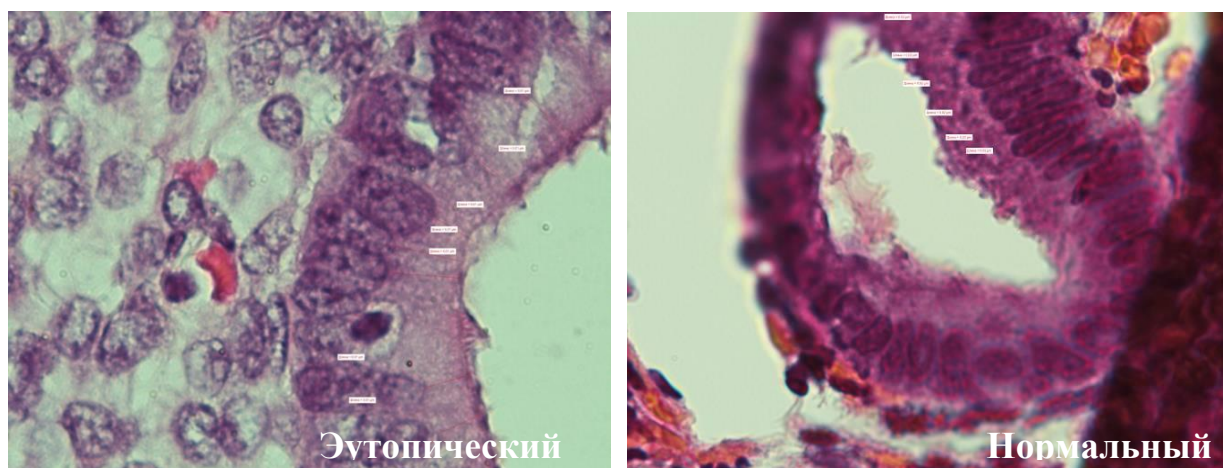


Рисунок 7 - Сравнение толщины железы в клетках эутопического и нормального эндометрия

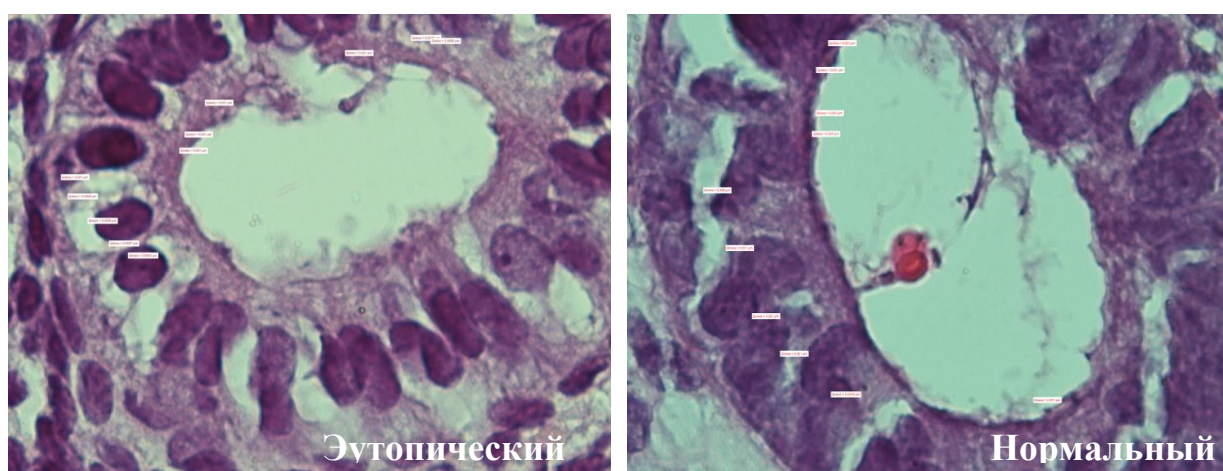


Рисунок 8 - Сравнение толщины цитоплазматической мембраны в клетках эутопического и нормального эндометрия

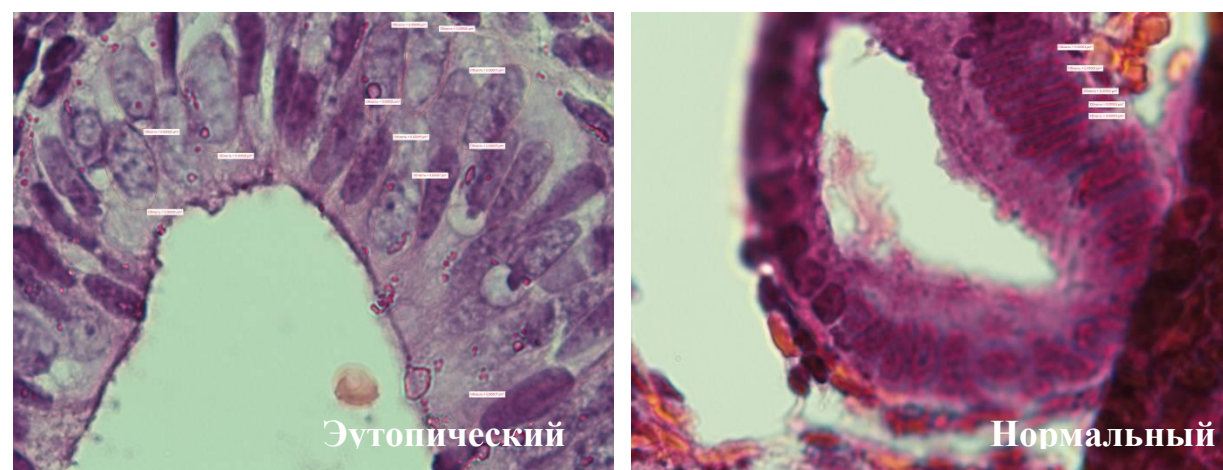


Рисунок 9 - Сравнение площади ядра в клетках эутопического и нормального эндометрия

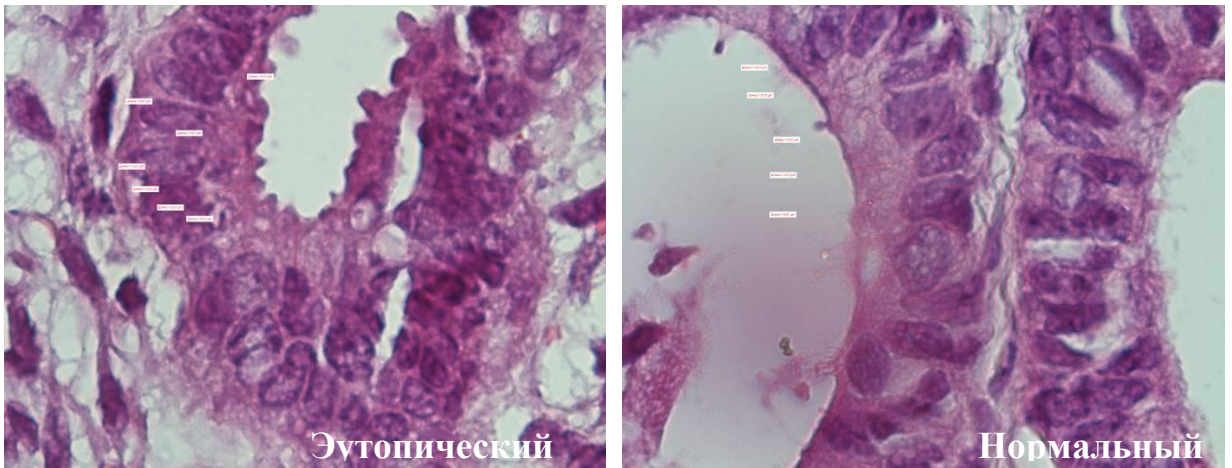


Рисунок 10 - Сравнение секреторной части в клетках эутопического и нормального эндометрия

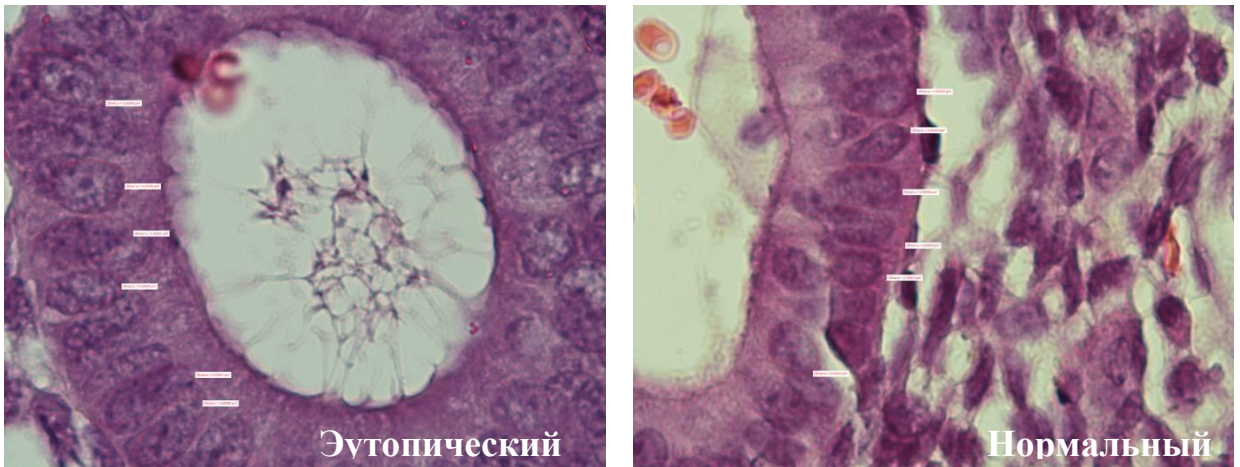


Рисунок 11 - Сравнение радиуса ядра в клетках эутопического и нормального эндометрия

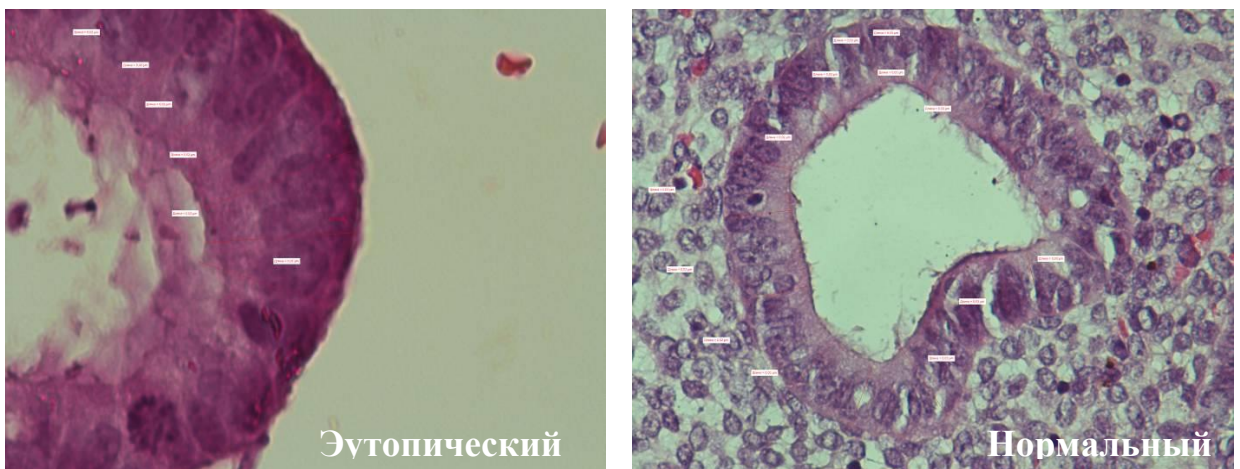


Рисунок 12 - Сравнение толщины железы в клетках эутопического и нормального эндометрия

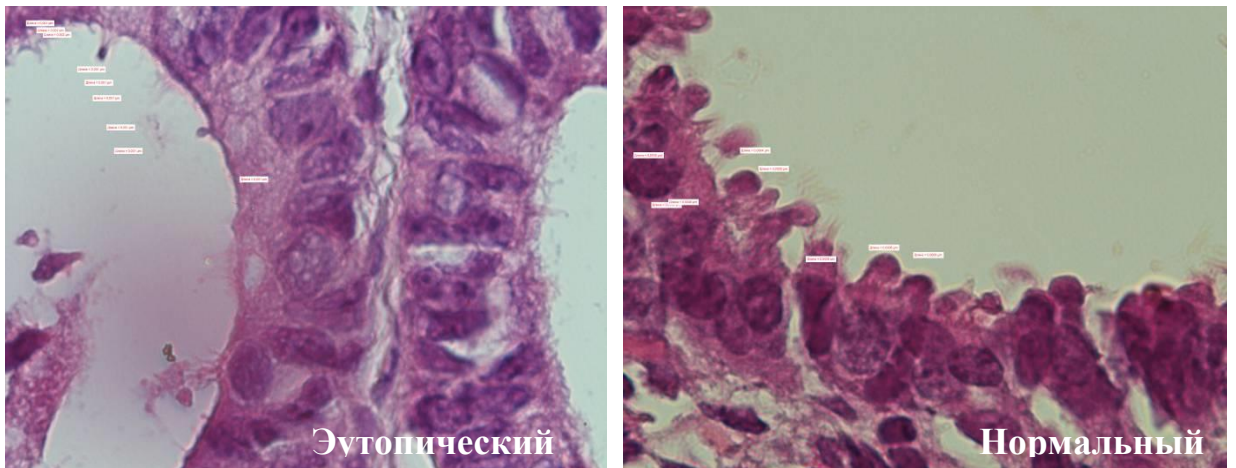


Рисунок 13 - Сравнение толщины цитоплазматической мембраны в клетках эутопического и нормального эндометрия

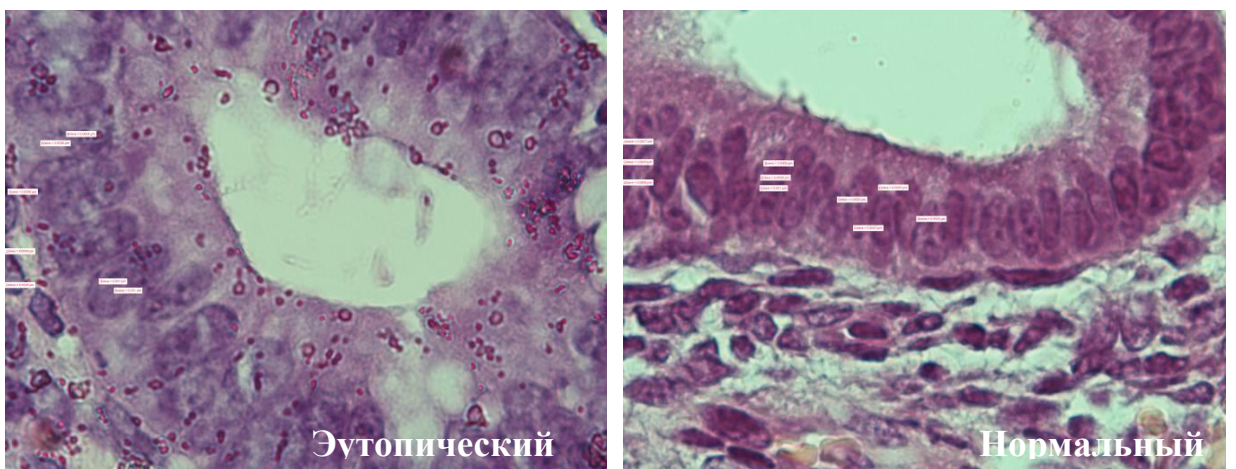


Рисунок 14 - Сравнение толщины ядерной мембраны в клетках эутопического и нормального эндометрия

При морфометрической оценке клеток эутопического эндометрия с клетками эпителиальной выстилки эндометриом были получены следующие данные: средняя яркость, толщина цитоплазматической мембраны, площадь ядра и толщина секреторной части клетки достоверно выше в клетках эутопического эндометрия, средняя плотность выше в клетках эктопического эндометрия (Таблица 13; Рисунок 15-24).

Таблица 13 – Морфометрические параметры клеток эутопического и эктопического эндометрия пациенток с эндометриоидными кистами яичников

Показатели	Эутопический эндометрий [n=70]	Эктопический эндометрий [n=70]	* p
	M, интерквартильный интервал		
Площадь ядра, мкм ²	0,00005 [0,00003÷0,00006]	0,00003 [0,00002÷0,00004]	0,0001*
Толщина секреторной части клетки, мкм	0,01 [0,0099÷0,01]	0,005 [0,004÷0,010]	0,0001*
Радиус ядра, мкм	0,0008 [0,0007÷0,0008]	0,0008 [0,0006÷0,0009]	0,708
Толщина железы, мкм	0,02 [0,02÷0,03]	0,01 [0,01÷0,02]	0,0001*
Толщина цитоплазматической мембраны, мкм	0,0008 [0,0006÷0,0010]	0,0007 [0,0005÷0,0008]	0,001*
Толщина ядерной мембраны, мкм	0,0007 [0,0006÷0,0008]	0,0007 [0,0005÷0,0007]	0,669
Средняя яркость	44,56 [37,74÷48,48]	38,03 [35,48÷41,23]	0,002*
Средняя плотность	0,37 [0,33÷0,45]	0,44 [0,40÷0,47]	0,003*

Примечания:

1 M – медиана, интерквартильный интервал

2 * - различия между группами достоверны при p<0,05

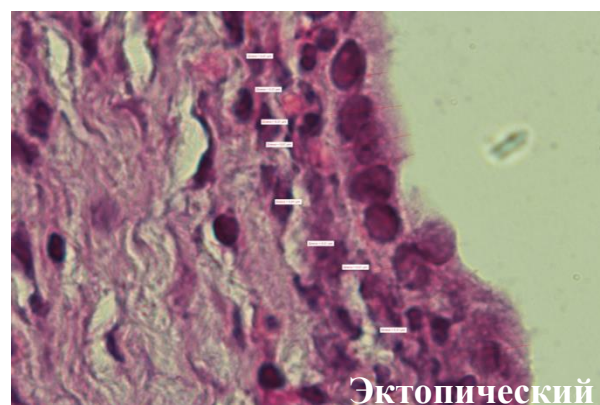
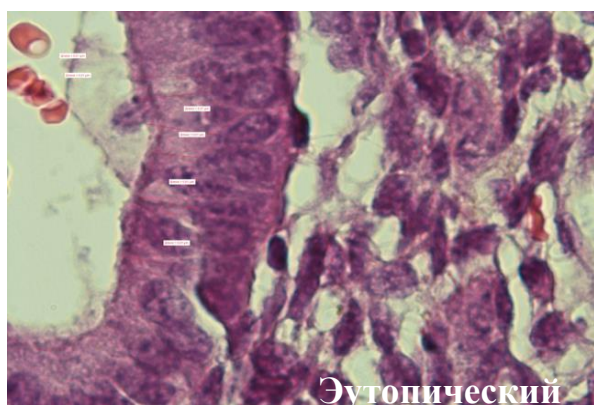


Рисунок 15 - Особенности эутопического и эктопического эндометриев с эндометриоидными кистами яичников

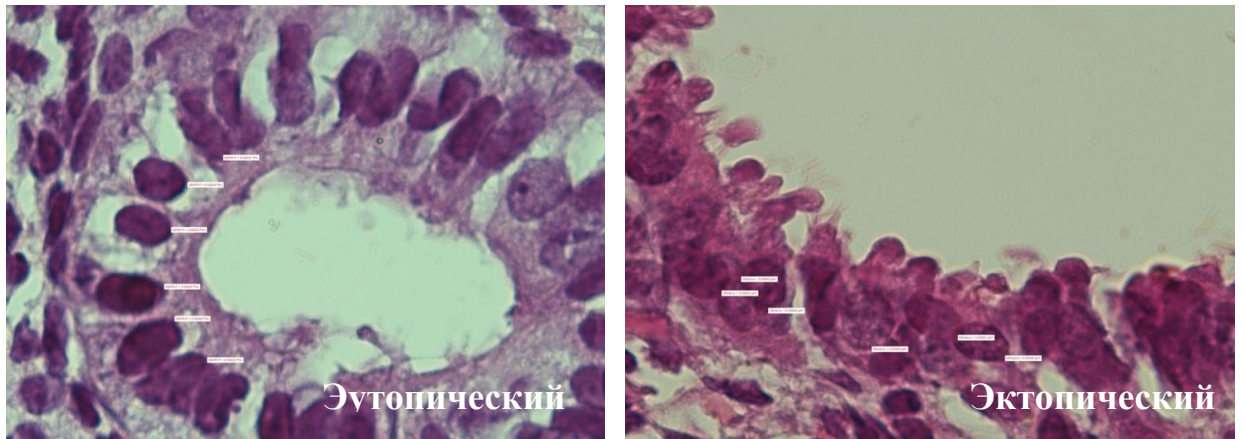


Рисунок 16 - Толщина секреторной части клетки эутопического и эктопического эндометриев с эндометриоидными кистами яичников

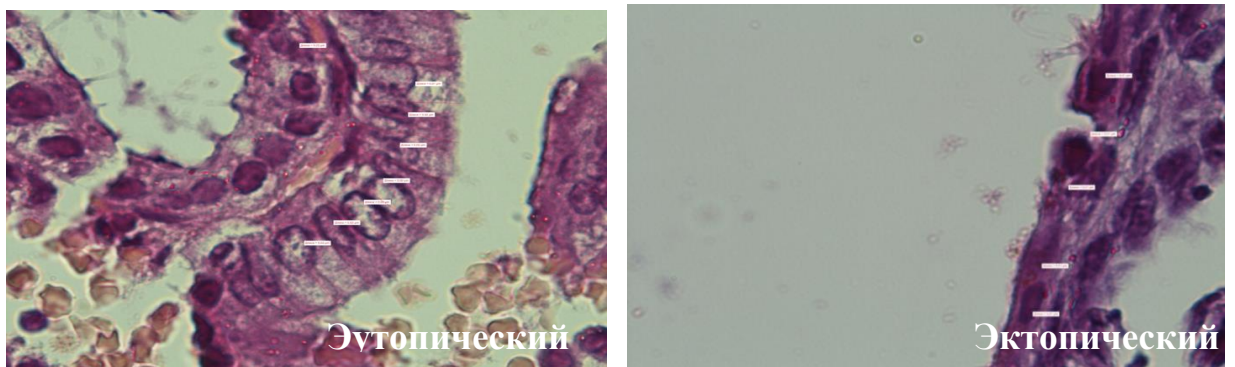


Рисунок 17 - Характеристика площади ядра эутопического и эктопического эндометриев с эндометриоидными кистами яичников

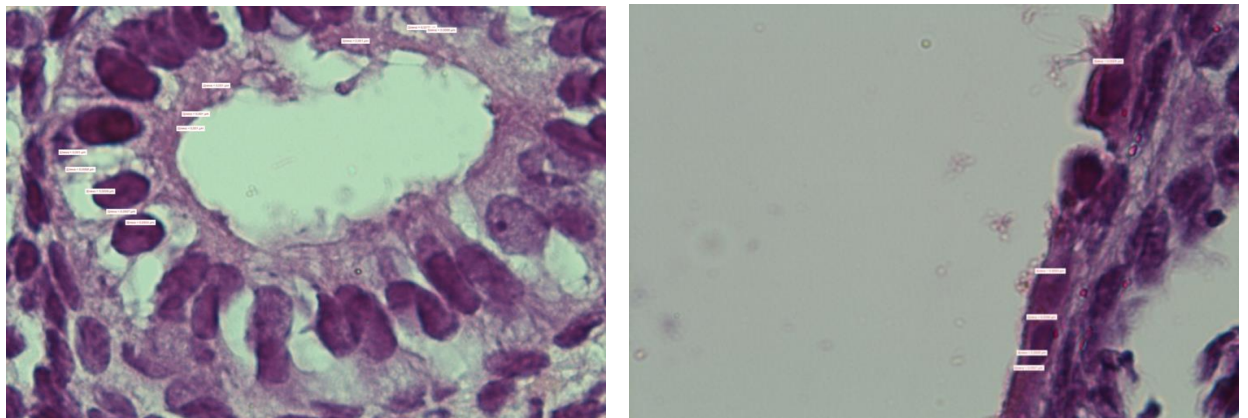


Рисунок 18 - Характеристика толщины цитоплазматической мембраны эутопического и эктопического эндометриев с эндометриоидными кистами яичников

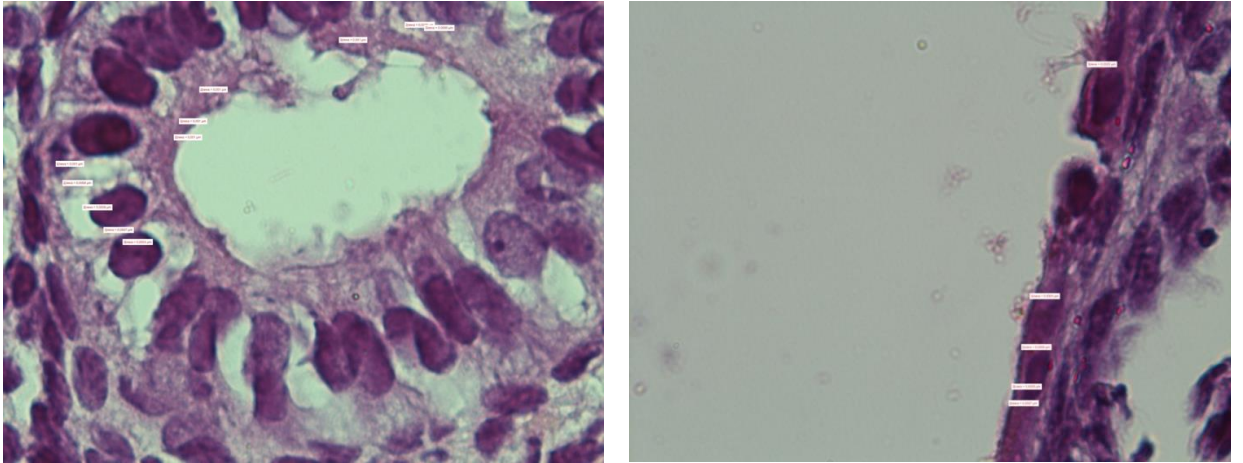


Рисунок 19 - Характеристика площади ядра эутопического и эктопического эндометриев с эндометриоидными кистами яичников

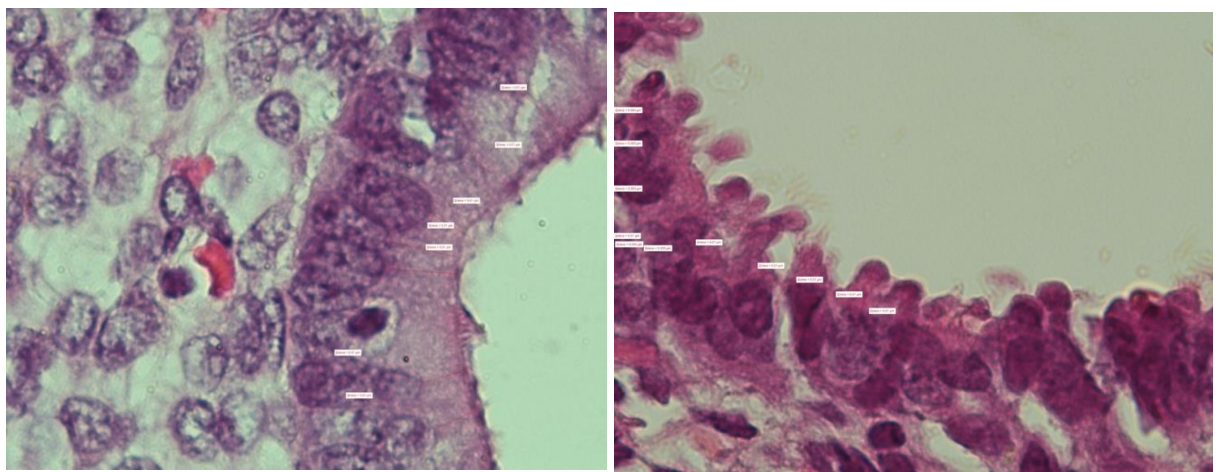


Рисунок 20 - Характеристика толщины цитоплазматической мембраны эутопического и эктопического эндометриев с эндометриоидными кистами яичников

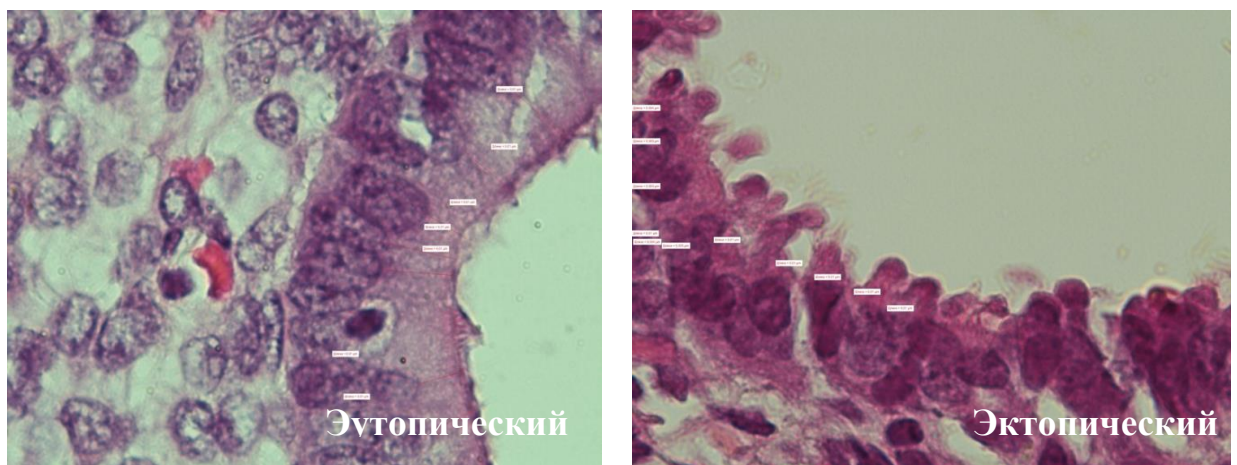


Рисунок 21 - Характеристика толщины железы эутопического и эктопического эндометриев с эндометриоидными кистами яичников

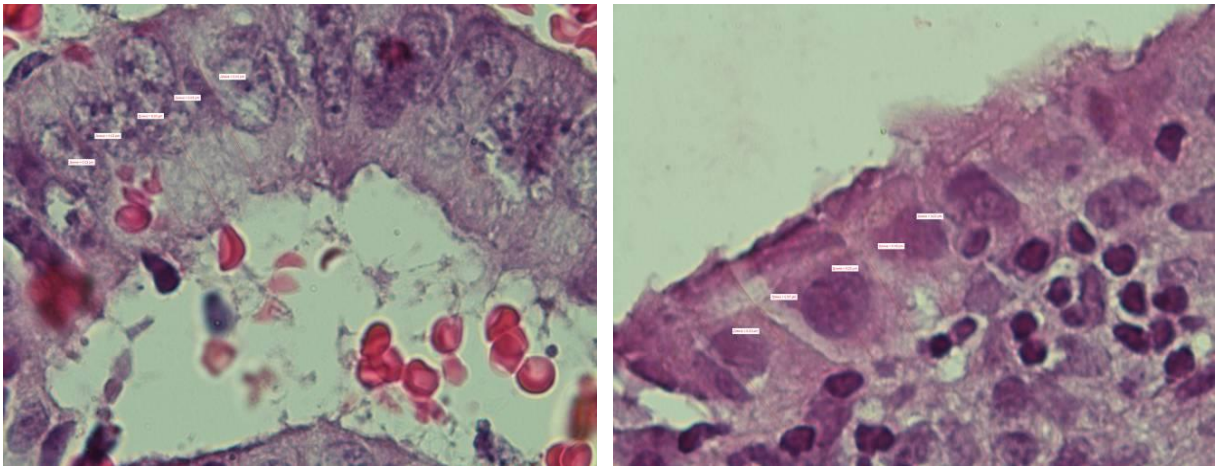


Рисунок 22 - Сравнение площади ядра в клетках эутопического и
эктопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ

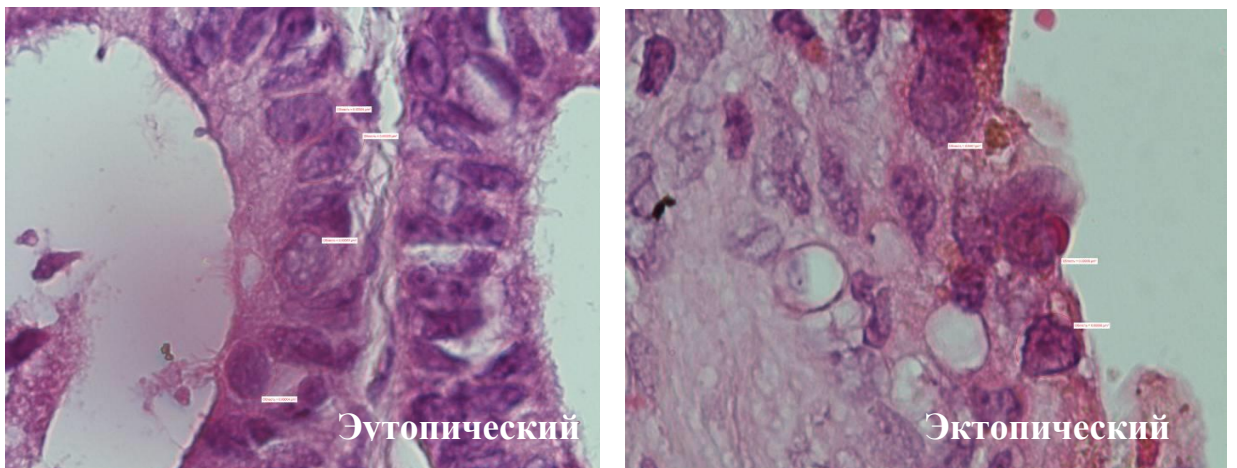


Рисунок 23 - Сравнение радиуса ядра в клетках эутопического и
эктопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ

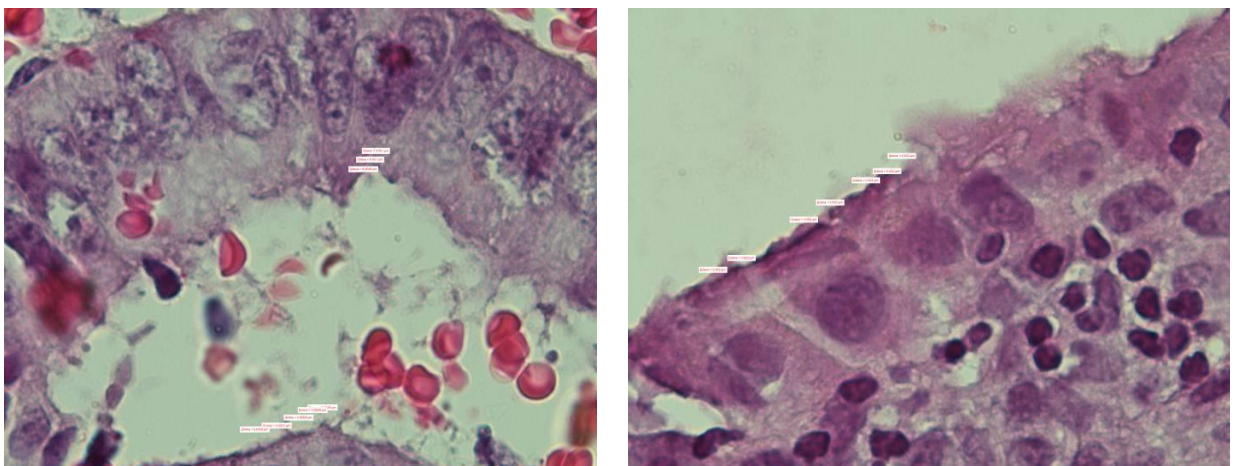


Рисунок 24 - Сравнение толщины цитоплазматической мембраны в клетках
эутопического и ectopического эндометрия у пациенток с ЭКЯ

Резюме

Таким образом, в ходе морфометрического анализа нами были выявлены очевидные отличия клеток эутопического эндометрия у пациенток с эндометриозом и нормального эндометрия. Статистически значимые различия практически между всеми параметрами отмечены при сравнении морфометрических характеристик клеток эктопического эндометрия с эутопическим у пациенток с ЭКЯ. Поскольку сравнение эутопического и эктопического эндометрия выполнялось и ранее [26], в большей степени нас интересовало сопоставление эутопического эндометрия с нормальным. В результате отмечено, что в эутопическом эндометрии толщина цитоплазматической мембраны и толщина железы достоверно ниже, а площадь ядра и толщина ядерной мембраны статистически значимо выше по сравнению с нормальным эндометрием. Увеличение белковых молекул-рецепторов может влиять на утолщение цитоплазматической мембраны [41, 26].

ГЛАВА 4. ЭКСПРЕССИЯ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ, CD15 И 45, PDGFR β В ЭКТОПИЧЕСКОМ И ЭУТОПИЧЕСКОМ ЭПИТЕЛИИ У ЖЕНЩИН С ЭНДОМЕТРИОИДНЫМИ КИСТАМИ ЯИЧНИКОВ И БЕЗ ЭНДОМЕТРИОЗА

Принимая во внимание все более возрастающий интерес к роли стволовых клеток в патогенезе эндометриоза, мы решили провести исследование PDGFR, CD45, CD15, MMP1 и MMP9. Показатели описательной статистики результатов анализа представлены в таблицах.

В таблице представлены данные сравнения указанных маркеров у пациенток первой группы в эутопическом и эктопическом эндометрии (Таблица 14).

Таблица 14 – Сравнение PDGFR, CD45, CD15, MMP1 и MMP9 в железах и строме в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с ЭКЯ (I группа)

	Эутопия		Эктопия		P
	n	Me [Q;Q3]	n	Me [Q1;Q3]	
MMP1_Железа	70	34[31÷38]	70	0,9[0,7÷1]	0,002
MMP1_Строма	70	1,25[0,9÷1,6]	70	0,9[0,8÷1]	0,001
MMP9_Железа	70	37[34÷39]	70	16[13÷19]	0,003
MMP9_Строма	70	1,6[1÷2]	70	2[1÷3]	0,001
CD15_Железа	70	8[8÷9]	70	35[32÷37]	0,002
CD15_Строма	70	1[0,8÷1,3]	70	16[15÷22]	0,003
CD45_Железа	70	0,8[0,7÷0,9]	70	21[18÷22]	0,001
CD45_Строма	70	0,8[0,7÷1]	70	33[32÷34]	0,004
PDGFR_Железа	70	9[8÷10]	70	38[38÷41]	0,002
PDGFR_Строма	70	1,1[0,8÷1,4]	70	18[17÷19]	0,001

Согласно полученным результатам, статистически значимые различия выявлены внутри группы по всем маркерам как в строме, так и в железах ($p < 0,05$).

При этом повышение MMP1 и MMP9 повышены в эутопическом эндометрии за исключением MMP9 в строме, а CD15 и 45, а также PDGFR в эктопическом эндометрии (Рисунки 25-39).

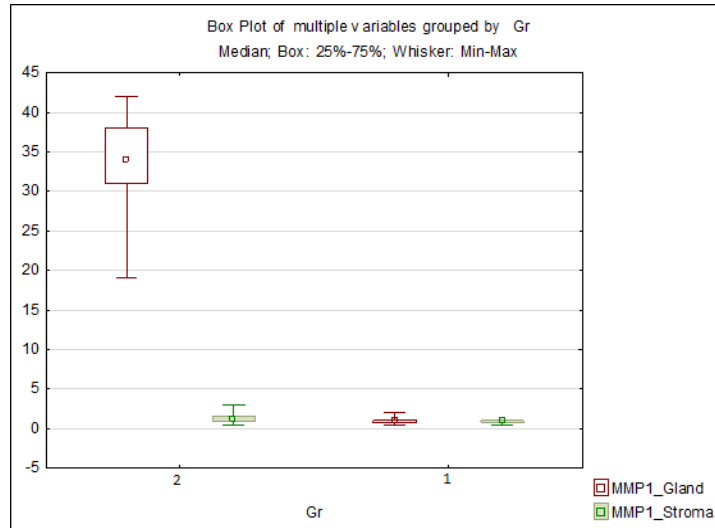


Рисунок 25 - Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с ЭКЯ на антиген MMP1 в (1- эктопия, 2 – эутопия)

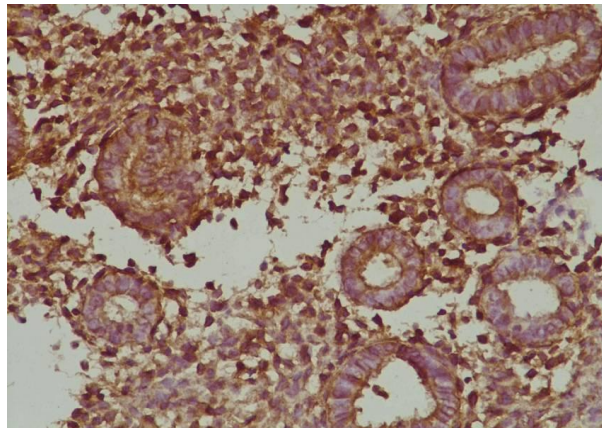


Рисунок 26 - Иммуногистохимическая реакция эутопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген MMP1 (X 200)

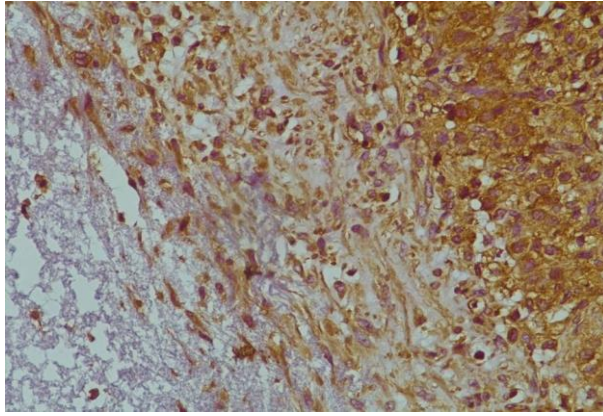


Рисунок 27 - Иммуногистохимическая реакция эктопического эндометрия пациенток с ЭКЯ на антиген MMP1 (X100)

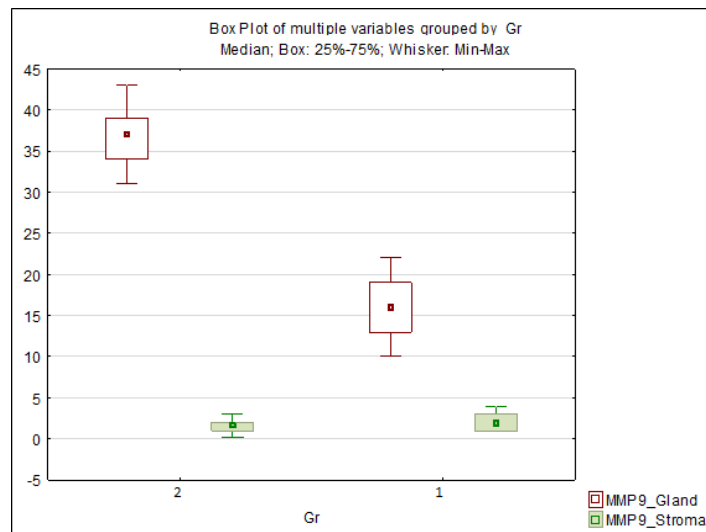


Рисунок 28 - Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с ЭКЯ на антиген MMP9 (1– эктопия, 2– эутопия)

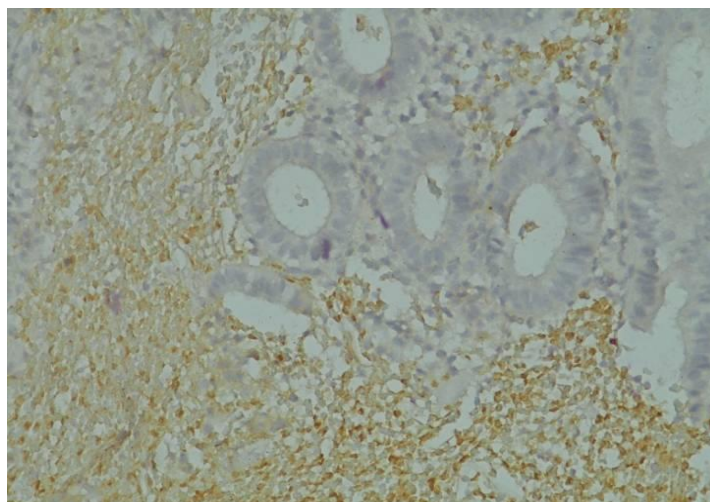


Рисунок 29 - Иммуногистохимическая реакция эутопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген MMP9 (X100)

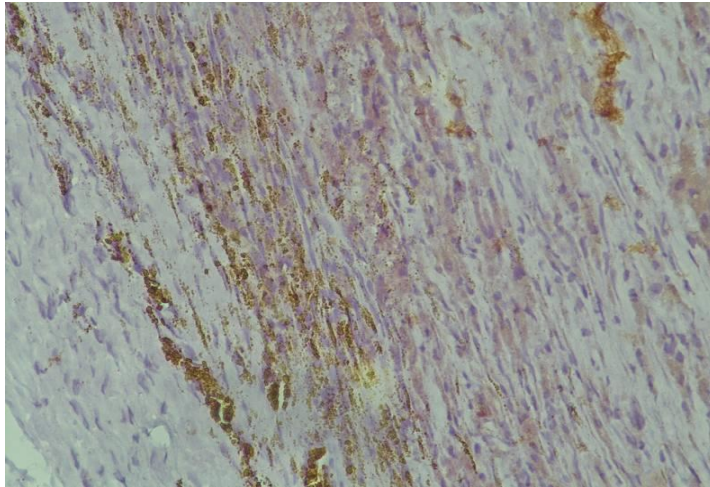


Рисунок 30 - Иммуногистохимическая реакция эктопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген MMP9 (x100)

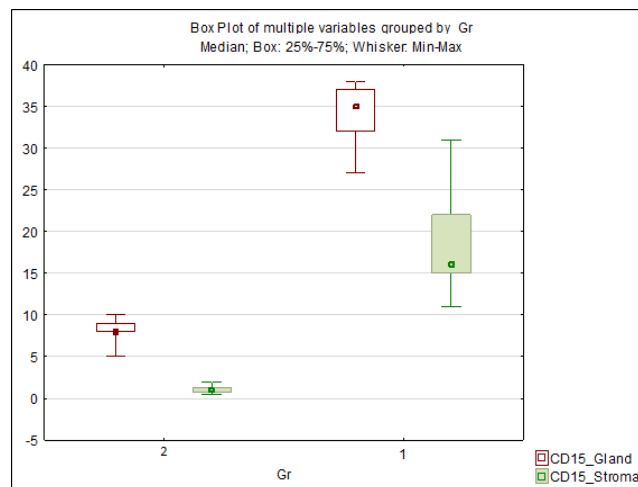


Рисунок 31 - Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с ЭКЯ на антиген CD15 (1- эктопия, 2 – эутопия)

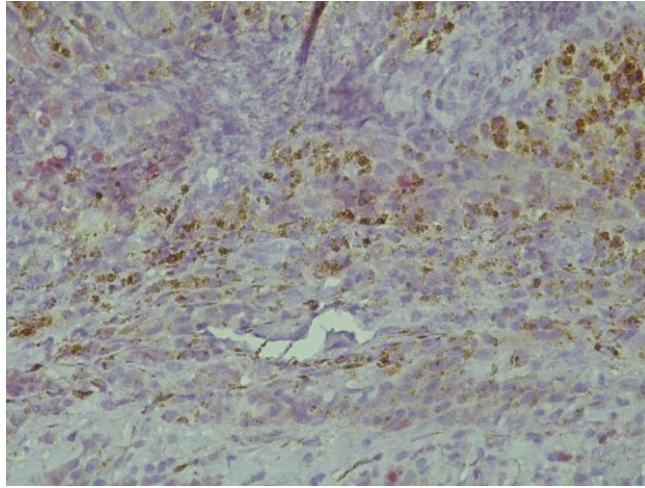


Рисунок 32 - Иммуногистохимическая реакция эутопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген CD15 (X100)

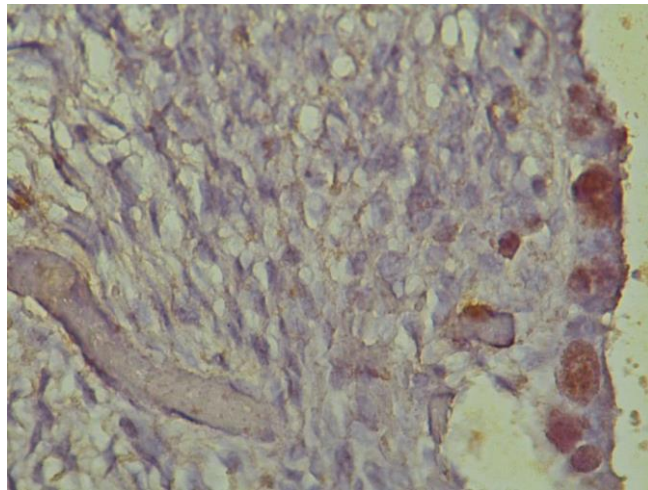


Рисунок 33 - Иммуногистохимическая реакция эктопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген CD15 (X100)

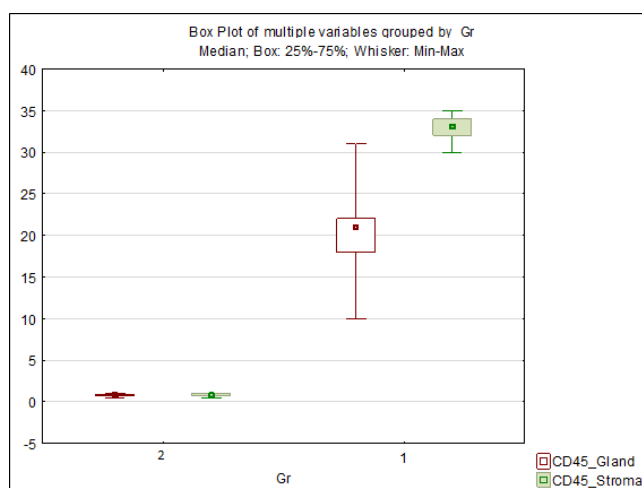


Рисунок 34 - Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы эутопического и эктопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген CD45 (1- эктопия, 2 – эутопия)

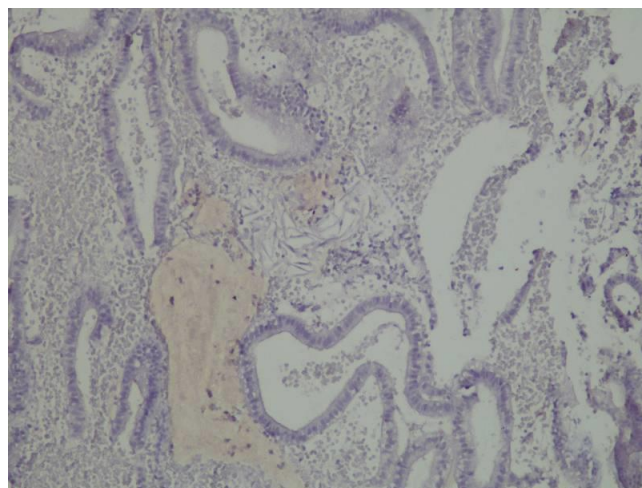


Рисунок 35 - Иммуногистохимическая реакция эутопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген CD45 (X100)

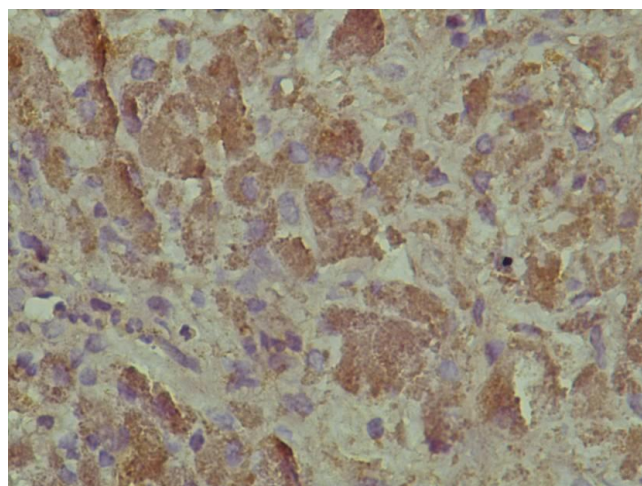


Рисунок 36 - Иммуногистохимическая реакция эктопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген CD45 (X200)

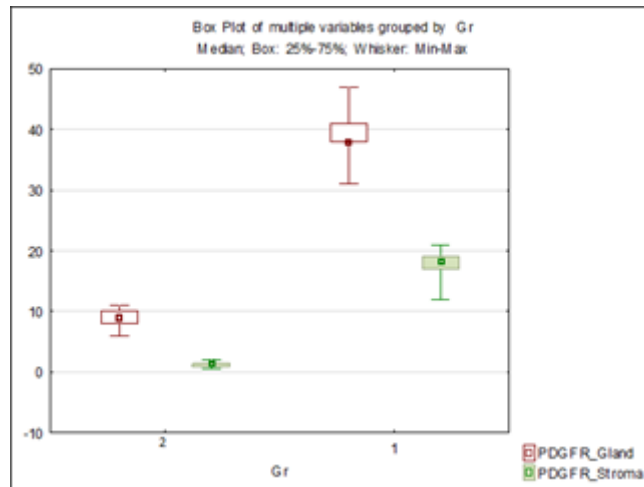


Рисунок 37 - Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы эутопического и эктопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген PDGFR (1– эктопия, 2 – эутопия)

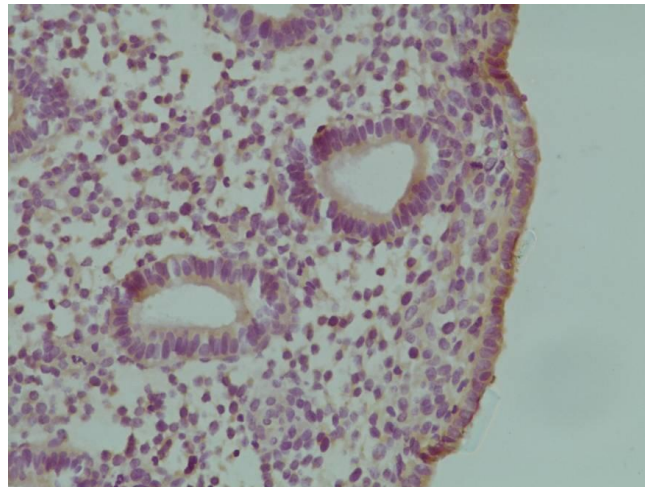


Рисунок 38 - Иммуногистохимическая реакция эутопического эндометрия у пациенток с ЭКЯ на антиген PDGFR (X200)

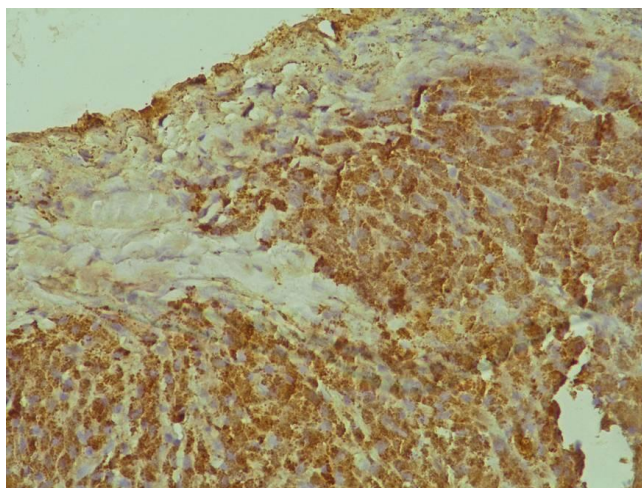


Рисунок 39 - Иммуногистохимическая реакция эктопического эндометрия пациенток с ЭКЯ на антиген PDGFR (X200)

Далее мы провели анализ исследуемых параметров в эутопическом и нормальном эндометрии. Результаты представлены в таблице 12.

Таблица 14 – Сравнение PDGFR, CD45, CD15, MMP1 и MMP9 в железах и строме в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с ЭКЯ (I группа)

	Эутопия		Эктопия		P
	n	Me [Q;Q3]	n	Me [Q1;Q3]	
MMP1_Железа	70	34[31÷38]	70	0,9[0,7÷1]	0,002
MMP1_Строма	70	1,25[0,9÷1,6]	70	0,9[0,8÷1]	0,001
MMP9_Железа	70	37[34÷39]	70	16[13÷19]	0,003
MMP9_Строма	70	1,6[1÷2]	70	2[1÷3]	0,001
CD15_Железа	70	8[8÷9]	70	35[32÷37]	0,002
CD15_Строма	70	1[0,8÷1,3]	70	16[15÷22]	0,003
CD45_Железа	70	0,8[0,7÷0,9]	70	21[18÷22]	0,001
CD45_Строма	70	0,8[0,7÷1]	70	33[32÷34]	0,004
PDGFR_Железа	70	9[8÷10]	70	38[38÷41]	0,002
PDGFR_Строма	70	1,1[0,8÷1,4]	70	18[17÷19]	0,001

Статистически значимые отличия были отмечены в отношении MMP9, PDGFR и CD15 в железах с повышением в эутопическом эндометрии, а также CD45 как в строме, так и в железе, но значения выше были в нормальном эндометрии (Рисунки 40-49).

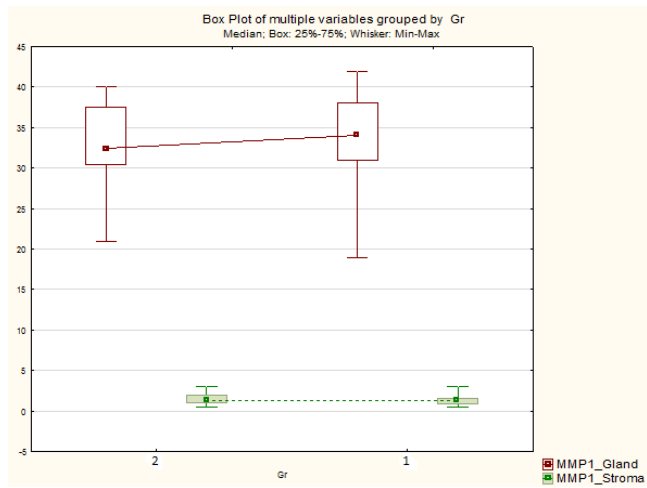


Рисунок 40 - Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы эутопического и нормального эндометрия между группами на антиген MMP1

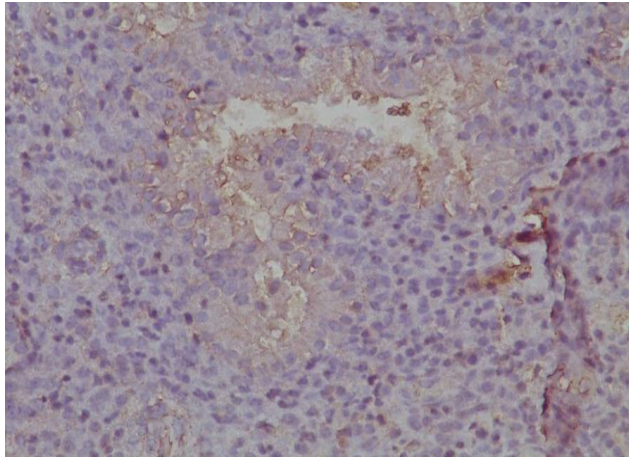


Рисунок 41. Иммуногистохимическая реакция нормального эндометрия на антиген MMP1(X100)

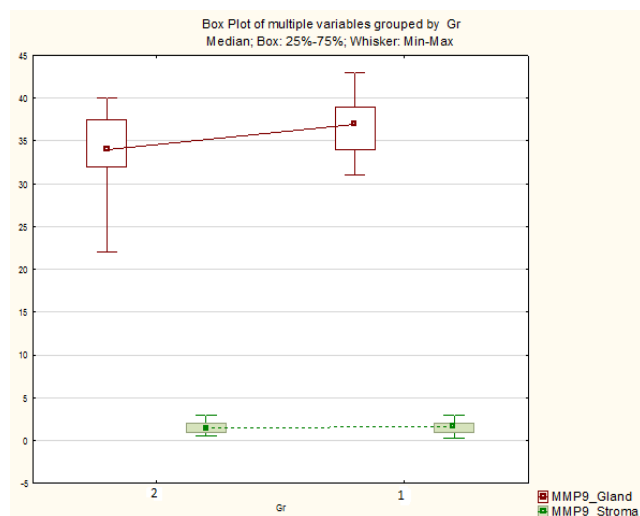


Рисунок 42. Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы эутопического и нормального эндометрия на антиген MMP9

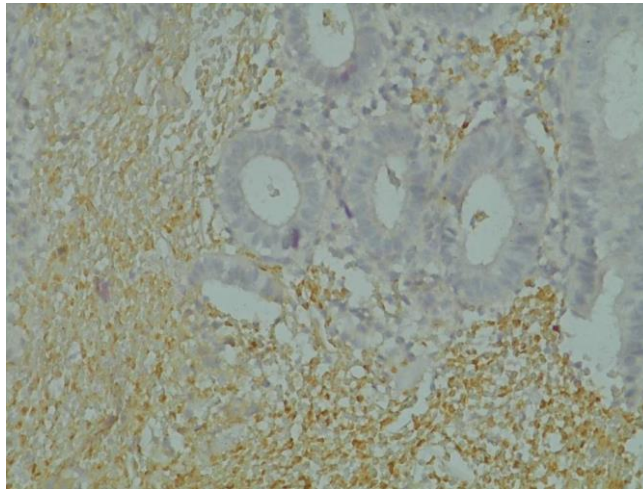


Рисунок 43. Иммуногистохимическая реакция нормального эндометрия на антиген MMP9(X100)

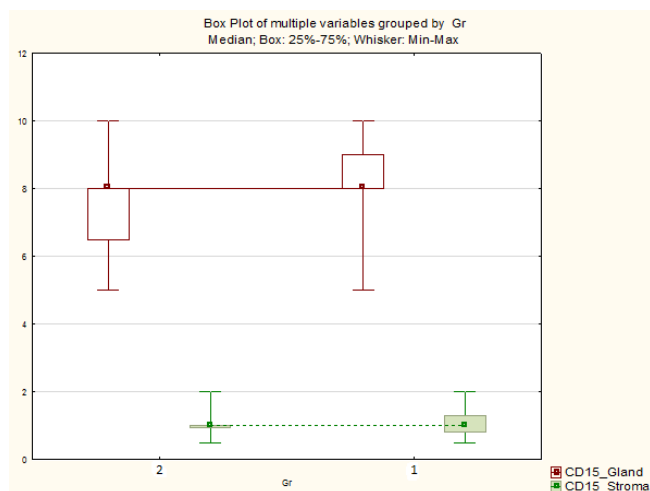


Рисунок 44. Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы нормального и эутопического эндометрия на антиген CD15

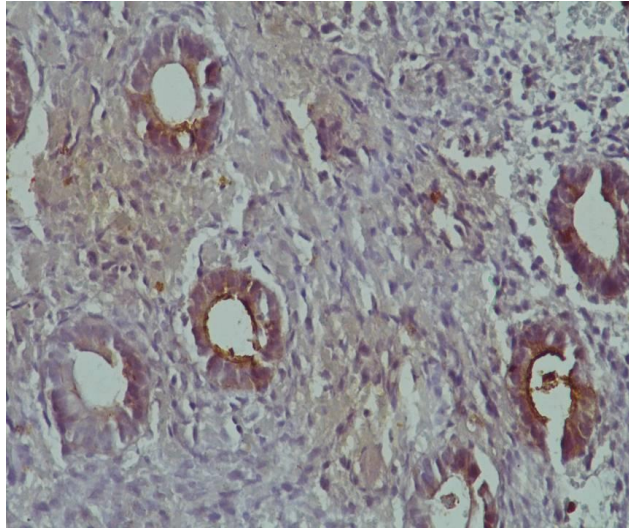


Рисунок 45. Иммуногистохимическая реакция нормального эндометрия на антиген CD15 (X200)

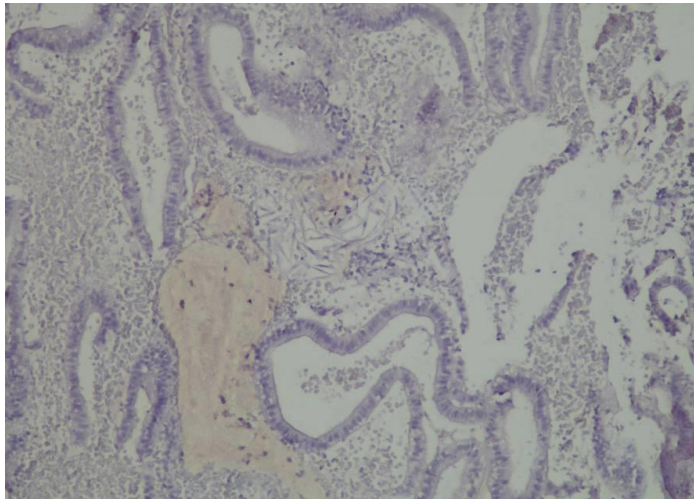


Рисунок 46. Иммуногистохимическая реакция стромы и железы эутопического эндометрия на антиген CD45 (X100)

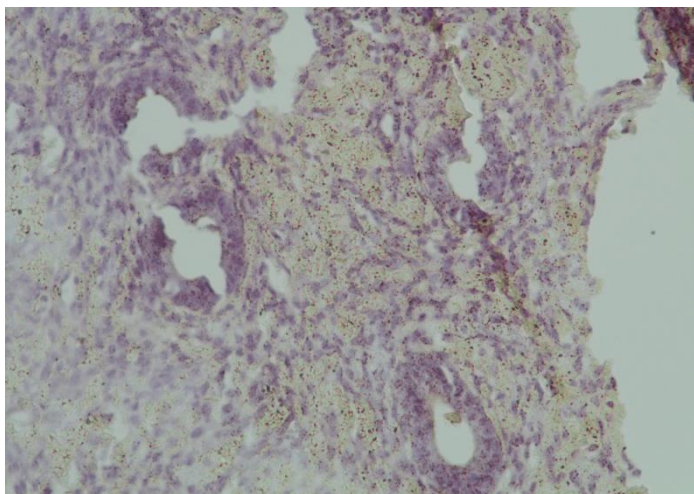


Рисунок 47. Иммуногистохимическая реакция стромы и железы нормального эндометрия на антиген CD45 (X100)

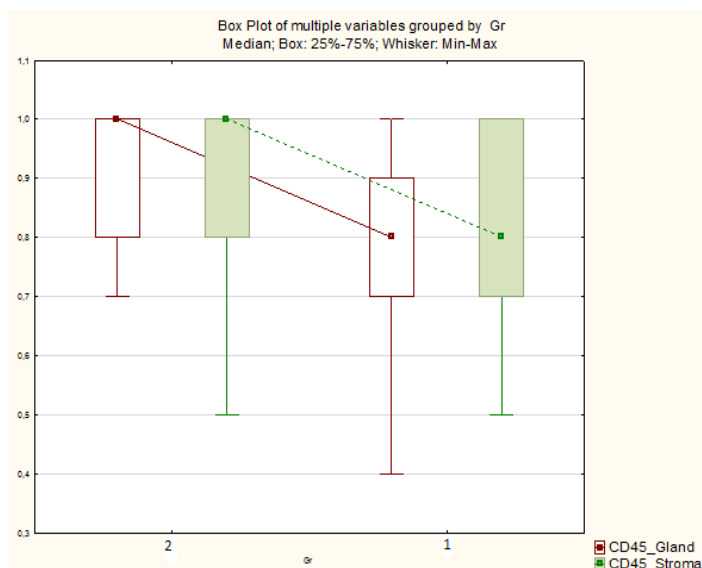


Рисунок 48. Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы эутопического и нормального эндометрия на антиген CD45

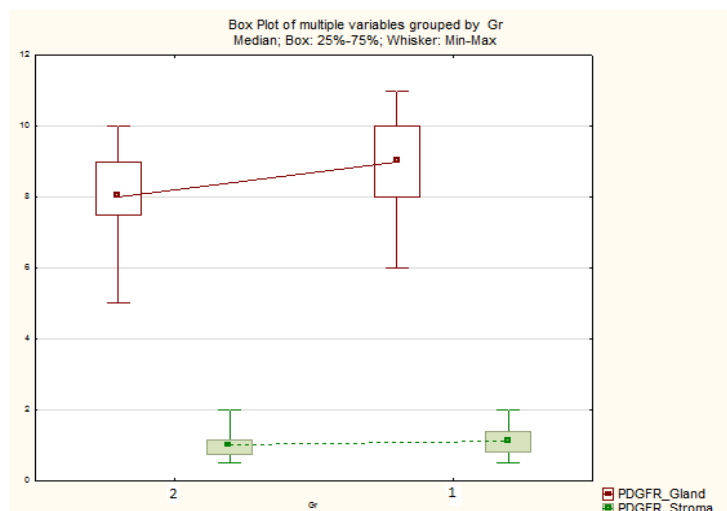


Рисунок 49. Отличия иммуногистохимической реакции стромы и железы эутопического и нормального эндометрия на антиген PDGFR (X100)

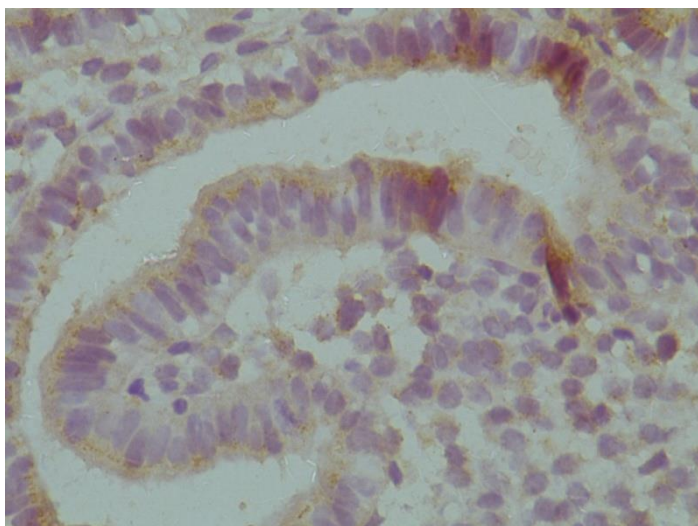


Рисунок 50. Иммуногистохимическая реакция нормальной эндометрии на антиген PDGFR (X100)

Резюме

Таким образом, между эутопическим и эктопическим эндометриями статистически значимые различия выявлены по всем маркерам как в строме, так и в железах. При этом MMP1 и MMP9 повышены в эутопическом эндометрии, а CD15 и 45, а также PDGFR в эктопическом эндометрии. В то же время, в железах эутопического эндометрия по сравнению с нормальным повышен MMP9, что может способствовать потенцированию инвазии эндометриоидных гетеротопий в подлежащие ткани [72].

Более высокая экспрессия в эктопическом эндометрии CD45 по сравнению с эутопическим подтверждает наличие воспалительного процесса в ЭКЯ, характерного процесса для эндометриоза.

CD15 (SSEA) был идентичным в эутопическом и нормальном эндометрии в строме, однако в железе он значимо повышен в эутопическом эндометрии. При этом его экспрессия в эктопическом эндометрии многократно превышает таковую в эутопическом эндометрии, что подтверждает предположение об участии дифференцированных плюриопотентных стволовых клеток человека в патогенезе эндометриоза.

PDGFR превалировал в железах эутопического эндометрия по сравнению с нормальным, а также в эктопическом по сравнению с эутопическим. Это косвенно может говорить о роли мезенхимальных стволовых клеток при формировании

ЭКЯ. Однако для подтверждения нашего предположения необходимо двойное окрашивание культуры клеток не только на PDGFR, но и CD146⁺, поскольку для ЭМСК характерно именно двойное окрашивание. Эндометриоз возникает как клональная пролиферация с предполагаемым вовлечением стволовых клеток, что подтверждают альтерации генома, идентифицированные в строме и эпителии эндометриоидных очагов из различных анатомических участков одного и того же пациента, а также экспрессия маркеров стволовых клеток [86]. Возможно, привлечение стволовых клеток обусловлено воспалительным процессом в ЭКЯ, что подтверждает повышенная экспрессия CD45.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результатом анализа клинико-анамнестических данных пациенток обеих групп явилось наличие статистически значимых различий между группами в отношении гиперполименореи ($p=0,003$) и отсутствие различий по возрасту, началу менархе, продолжительности менструального цикла и альгодисменорее ($p=0,6$).

Анализ репродуктивной функции пациенток с ЭКЯ и пациенток без эндометриоза статистически достоверных различий не выявил. Ни указание на перенесенный воспалительный процесс органов малого таза, ни наличие миомы матки не дали значимых различий ($p>0,05$). Дисплазия шейки матки достоверно чаще встречается у пациенток с эндометриозом по сравнению с отсутствием такого. Простая гиперплазия без атипии была выявлена в 100% в основной группе.

У 13 пациенток II группы спаечный процесс в брюшной полости не был выявлен. У 11 (45,83%) пациентки диагностирован спаечный процесс III-IV степени. У пациенток с эндометриозом спаечный процесс II степени был в 21 (30%) случае, в значительно большей степени (у 49 (70%) пациенток) спаечная болезнь была III-IV степени.

Что касается эндометриоидных кист, то поражение левого или правого яичника встречалось практически с одинаковой частотой. ЭКЯ правых придатков наблюдалось у 27 (38,6%) пациенток в I группе. Поражение левого яичника зарегистрировано у 37,1% случаев (26 пациенток). Двусторонние ЭКЯ диагностированы у 17 (24,3%) женщин I группы.

Таким образом, анализ клинических данных пациенток с эндометриозом подтвердил тенденцию к нарушению менструальной функции и пролиферативным процессам женской репродуктивной сферы по сравнению с

пациентками без эндометриоза, а также выраженность спаечного процесса за счет эндометриоза.

Наши данные подтверждают гипотезу о различиях эутопического эндометрия у взрослых женщин с эндометриозом от эндометрия здоровых женщин как в пролиферативной, так и в секреторной фазах [76,77]. Неизвестно, как и когда происходят эти изменения. Более того, остается необходимость показать, что изменения есть уже у подростков [84].

Морфометрическому изучению эутопического эндометрия посвящено не так много работ, в основном отечественных ученых [4, 26]. Ранее проведенные морфометрические исследования в эндометриоидных гетеротопиях [4] и эндометриоидных кистах [26] доказали усиление пролиферативной активности в эктопическом эндометрии.

Результаты проведенного нами морфометрического исследования не только подтвердили различия между эктопическим и эутопическим эндометриями у пациенток с ЭКЯ, что уже ранее было доказано [25], но и продемонстрировали различия между нормальным и эутопическим эндометриями. В связи с этим, мы можем говорить, что изначально у женщин с эндометриозом есть изменения уже в эутопическом эндометрии. Несмотря на то, что мы получили в гистологических заключениях соскобов из полости матки простую гиперплазию эндометрия без атипии, следует с известной долей осторожности относиться к гистологическим заключениям о наличии у больных с ЭКЯ гиперпластических процессов в эндометрии, так как морфометрический анализ не подтверждает данные результаты: при сравнении эутопического и нормального эпителия толщина желез достоверно выше в нормальном эндометрии (0,02 (0,02÷0,03); 0,03 (0,02÷0,03), мкм, $p=0,037$).

Сравнение иммуногистохимического исследования MMP1, MMP9, CD15, CD45 и PDGFR показало наличие статически значимых различий между всеми маркерами при сравнении эутопического и эктопического эндометриев у пациенток с эндометриоидными кистами яичников. При этом уровень MMP1 (34%; 0,9%; $p=0,002$) многократно выше в железах эутопического эндометрия по

сравнению с эктопическим и незначительно (но значимо) выше в строме эутопического эндометрия (1,25%; 0,9%; $p=0,001$).

Касаемо MMP9, отмечено его повышение более чем в два раза в железах в эутопическом эндометрии по сравнению с эктопическим (37%; 16%; $p=0,003$), но в строме он, наоборот, повышен в эктопическом эндометрии (1,6%; 2%; $p=0,001$).

CD15 статистически значимо выше как в железах (8%; 35%; $p=0,002$), так и в строме в эктопическом эндометрии (1%; 16%; $p=0,003$). Идентичные данные получены для CD45 (в железах – 0,8%; 21%; $p=0,001$; в строме – 0,8%; 33%; $p=0,004$) и PDGFR (в железах – 9%; 38%; $p=0,002$; в строме – 1,1%; 18%; $p=0,001$).

Что касается сопоставления данных иммуногистохимических исследований всех перечисленных маркеров эутопического эндометрия больных с эндометриозом с нормальным эндометрием пациенток без эндометриоза, то значимые различия отмечены между MMP9 в железах с повышением у пациенток с эндометриозом (37%; 34%; $p=0,001$). Значимо отличился уровень CD15 в железах у пациенток с ЭК (8% ($8\div 9$); 8% ($6,5\div 8$); $p=0,006$).

CD45 как в строме (0,8%; 1%; $p=0,005$), так и в железах (0,8%; 1%; $p=0,001$) был выше у пациенток без эндометриоза.

Отличия по PDGFR были выявлены у пациенток первой группы в железах (9%; 8%; $p=0,001$). Что касается стромы, то статистически значимых различий получено не было (1,1%; 1; $p=0,26$).

Также отсутствовали значимые различия в строме в отношении CD15 (1%; 1%; $p=0,33$) и MMP9 (1,6%; 1,45%; $p=1,45$).

MMP1 не отличался как в строме (1,25%; 1,3%; $p=1,31$), так и в железах (34%; 32,5%; $p=0,17$).

Периваскулярные эндометриальные мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (эмСК) локализуются как в базальном, так и в функциональном слоях [128]. Подраумеется, что они распространяются во время менструации в брюшную полость. Действительно, менструальная кровь женщин с эндометриозом содержит больше фрагментов базального эндометрия по сравнению с контролем [89].

эмСК из эндометрия менструальной стадии подвергаются значительно большему количеству циклов самообновления, чем в период пролиферативной или секреторной стадий [175], что предполагает, что эмСК менструальной стадии могут быть «загрунтованы» для поддержки регенерации эндометрия и для формирования эктопических повреждений.

эмСК могут быть идентифицированы специальными маркерами, включая двойную позитивность CD146 и фактор роста тромбоцитов β (platelet derived growth factor beta (PDGFR β)) и SUSD2⁺ (распознаваемыми с помощью W5C5 антител) [129]. PDGFR β ⁺CD146⁺ эмСК имеет более высокую экспрессию трансформирующего фактора роста β по сравнению с PDGFR β ⁺CD146⁻ стромальными фибробластами [132].

Эндометриальные стромальные фибробласты женщин с эндометриозом демонстрируют поврежденную способность к децидуализации по сравнению с женщинами без эндометриоза, что связано с резистентностью к прогестерону эндометрия и бесплодием [166].

Недавние исследования PDGFR β ⁺CD146⁺ эмСК и PDGFR β ⁺CD146⁻ стромальных фибробластов, выделенных у женщин без эндометриоза, показали, что эмСК являются предшественниками стромальных фибробластов [70,172]. Обе эти линии клеток имеют идентичный набор генов. In vitro было доказано, что стромальные фибробласты наследуют резистентность к прогестерону от эмСК предшественников. В противоположность этому, профиль провоспалительных генов стромальных фибробластов при эндометриозе не является признаком их эмСК предшественников, доказывая, что in vivo эффекты нишевого фактора наделяют провоспалительным фенотипом стромальные клетки при эндометриозе [132].

Мы получили повышение уровня PDGFR β ⁺клеток при иммуногистохимическом исследовании как в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим, так и в эутопическом по сравнению с нормальным. Повышение уровня клеток с данным положительным маркером свидетельствует об возможном увеличении как эмСК, так и стромальных фибробластов в

эутопическом и эктопическом эндометриях при эндометриозе, поскольку мы не проводили двойное окрашивание на CD146⁺, характерное для ЭМСК. Полученными нами результаты являются возможным вкладом в доказательство роли PDGFR β ⁺клеток в патогенез эндометриоза.

Следующий маркер, который мы исследовали в работе был CD15. Идентифицированный маркер базального эпителия эндометрия SSEA-1 (stage-specific embryotic antigen 1, иначе CD15) представляет собой кластер дифференцировочного антигена - иммунологически значимой молекулы; CD15 является молекулой адгезии углеводов, которая может быть экспрессирована на гликопротеинах, гликолипидах и протеогликанах. SSEA-1⁺ эпителиальные клетки имеют высокую теломеразную активность и длиннее теломеразы. SSEA (CD15) – маркер дифференцированных плюрипотентных стволовых клеток человека [или нейтрофилов, у которых CD15 опосредует фагоцитоз и хемотаксис], найден в эктопических перитонеальных эндометриоидных очагах [75], что подтверждает теорию G. Leyendecker с соавторами о распространении базального эндометрия у женщин с эндометриозом [102].

Наши данные говорят, что CD15 заметно повышался в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим и незначительно отличался при сравнении последнего с нормальным в железах. Неизвестно, обладают ли SSEA-1⁺ большей клоногенной активностью, чем SSEA-1⁻[89]. Однако, как минимум, количество SSEA-1⁺клеток в нашем исследовании доказывает роль дифференцированных плюрипотентных стволовых клеток в патогенезе эндометриоза.

Многочисленные исследования показали геномные различия между эутопическим (эндометрий женщин с эндометриозом) и нормальным эндометрием (от женщин без эндометриоза) [115, 116], подтверждая, что эндометриальные стволовые клетки/предшественники могут также отличаться между женщинами с эндометриозом и без [89]. Более высокие уровни клонирования были найдены в нормальном эндометрии по сравнению с эутопическим эндометрием и выше в эутопическом эндометрии по отношению к

эктопическому [80]. Это поддерживает мнение, что стволовые клетки/предшественники требуют внешние факторы для активации пролиферации и дифференцировки в эктопических очагах. Эти характеристики клоногенных эндометриальных эпителиальных клеток могут объяснить, почему эндометриоз доброкачественное заболевание, несмотря на сходство с опухолевыми клетками [89].

эмСК эктопического эндометрия имеют выше уровень генов протеолиза внеклеточного матрикса, которые могут способствовать заброшенным рефлюксом эмСК вторгнуться в мезотелий для установления повреждений [122]. Или роль играет микросреда перитонеума [89].

Особенностью стволовых клеток является негативная экспрессия эстрадиола (E_2). Стимуляция стволовых клеток E_2 никак не изменяет их пролиферацию, миграцию и инвазию. Только на 14-е сутки культивирования мезенхимальные клетки начинают дифференцироваться в эпителиальные клетки, имеющие специфические маркеры — цитокератин, E-кадхерин и эстрогеновые рецепторы [174.]. Возможно, именно поэтому после прекращения гормональной терапии так высока вероятность рецидива эндометриоза. Отсюда и вероятное объяснение тому факту, что нет подтверждения влияния состояния постоянной гипоэстрогении на долгосрочную прогрессию заболевания [157]. Будущие исследования должны быть направлены не столько на подтверждение значимости стволовых клеток в патогенезе эндометриоза, но, главным образом, на поиск этиотропной терапии с оценкой ее эффективности *in vivo* и *in vitro*. С другой стороны, учитывая, что частота рецидива снижается после 5 лет после прекращения гормональной терапии, на сегодняшний день возникает необходимость в постоянном наблюдении за этими пациентками, особенно при отказе от гормонального лечения после оперативного вмешательства.

Еще один исследованный нами маркер – это CD45 (общий антиген лейкоцитов), уникальный и вездесущий мембранный гликопротеин с молекулярной массой около 200 кДа. Он экспрессируется почти во всех гемопоэтических клетках, за исключением зрелых эритроцитов. Очень важно

отметить, что все мезенхимальные стволовые клетки и стромальные клеточные популяции эндометрия человека не имеют этого маркера [159]. Он был незначительно, но статистически значимо повышен в железах нормального в нашем исследовании. Однако значимое его повышение отмечено в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим. Вероятным объяснением этому факту может служить тот факт, что CD45 присущ лейкоцитам [159], что свидетельствует о выраженном воспалении в эндометриоидных кистах.

На сегодняшний день существует огромное количество исследований роли металлопротеаз в патогенезе эндометриоза. Мы акцентировали свое исследование на значении MMP1 и 9. В результате было выявлено повышение статистически значимое повышение концентрации MMP9 в железах эутопического эндометрия по сравнению с нормальным. Однако иммуногистохимически мы выявили статистически значимые высокие уровни обеих MMP как в железах, так и в строме в эутопическом эндометрии по сравнению с эктопическим. Ранее было показано, что уровень MMP выше в эктопических очагах по сравнению с эутопическим эндометрием [117, 120]. Мы провели исследование MMP в эндометриоидных кистах яичников. Возможно, снижение уровня MMP в этом случае связано с длительностью существования эндометриоидных кист до выполнения оперативного вмешательства и снижением активности протеаз внутри них. Можно полагать, что в начальный период формирования эндометриоидной гетеротопии на яичнике с развитием эндометриоидной кисты активность MMP значительно выше. Тем не менее, важным, по нашему мнению, является повышение MMP в эутопическом эндометрии по сравнению с нормальным, что несомненно поддерживает мнение о большей пролиферативной активности эутопического эндометрия по сравнению с нормальным.

Результаты проспективного наблюдения, продемонстрировавшие высокий процент наступления рецидива ЭКЯ после отмены терапии в послеоперационном периоде, безусловно, не являются уникальными, а подтверждают нашу определенную «беспомощность» в отношении предупреждения рецидива. Объяснением этому служит тот факт, что, назначая любой вид терапии,

предусматривающий гипоэстрогенный фон, либо подавление овуляции, либо уменьшая активность воспалительного процесса или металлопротеиназ в очагах, мы не достигаем желаемого эффекта – полного излечения заболевания. Это подчеркивают и данные нашей работы, а именно различия в морфометрических характеристиках эндометрия эутопического и эктопического эндометриоза при эндометриозе и нормального эндометрия, а также доказательство роли стволовых клеток в патогенезе заболевания, на которые мы не можем повлиять имеющейся в нашем арсенале терапией.

Усилия современной науки, по нашему мнению, должны быть направлены на создание алгоритмов терапии с учетом индивидуальных потребностей пациента и его статуса. С другой стороны, мы ожидаем от научных исследований следующего этапа – не просто изучения патогенеза, но и создания новых методов терапии с учетом уже имеющихся данных: например, препятствие притоку стволовых клеток к очагам эндометриоза. Перспективным направлением является и разработка маркеров, позволяющих определить группы риска по развитию и прогнозу заболевания, а также рецидиву.

Тем не менее, результаты проспективного исследования относительно небольшой когорты женщин продемонстрировали большую эффективность гестагенов по сравнению с другими препаратами в отношении предупреждения рецидива заболевания. Несомненно, чтобы делать глобальные выводы, требуется большее количество наблюдений и не в одном медицинском центре.

В 2018 году R. Casper опубликовал статью, в которой обосновал свое мнение о преимуществах пероральных гестагенов в качестве первой линии терапии эндометриоза [78]. Гестагены способны подавлять овуляцию и приводить к аменорее, что купирует дисменорею. Прием гестагенов в непрерывном режиме ведет к относительной гипоэстрогении и подавлению очагов эндометриоза. Сохраняющийся достаточный уровень эндогенных эстрогенов предотвращает снижение минеральной плотности костной ткани [161].

Нами наглядно было показано, что в ЭКЯ маркер воспаления (CD 45) значимо выше по сравнению с нормальным и эутопическим эндометрием.

Гестагенам присущи противовоспалительный и антиангиогенный эффекты, уменьшающие прогрессию эндометриоидных гетеротопий [147], что может быть возможным объяснением полученных нами результатов проспективного наблюдения. Анализ полученных нами данных выявил незначительное повышение металлопротеиназ в железах в эутопическом эндометрии по сравнению с нормальным. Однако в эктопическом эндометрии уровень ММР ниже по сравнению с эутопическим. Возможным объяснением этому может быть персистенция кист до оперативного лечения. К сожалению, клинически это сложно доказать, поскольку мы не знаем сколько времени существуют ЭКЯ до выявления их при консультации гинеколога. Косвенным доказательством длительности существования кист могут быть данные А.Е. Колосова и В.А. Печениковой с соавторами о стадиях развития эндометриоидных кист яичников и снижении железистой ткани с увеличением длительности существования кист [43]. Гестагены способны снижать экспрессию матриксных металлопротеиназ, уменьшая тем самым инвазию имплантатов эндометриоза [162]. Собственно, этой особенностью вполне можно объяснить наши данные о более низком проценте рецидивов после использования гестагенов за счет препятствия формированию новых имплантов после оперативного лечения.

В России для лечения эндометриоза зарегистрированы два пероральных гестагена - дидрогестерон и диеногест [14].

Действие обоих гестагенов направлено на подавление рецепторов прогестерона и пролиферации клеток и повышение интенсивности апоптоза. Интересным является тот факт, что дидрогестерон в экспериментальной модели обладает более выраженным действием в отношении пролиферации и апоптоза по сравнению с диеногестом [140].

В исследуемой когорте женщин с ЭКЯ мы получили простую гиперплазию эндометрия. По данным литературы, в эксперименте дидрогестерон способствует эндометриальной атрофии, в то время как диеногест, напротив, потенцирует гиперплазию эндометриальных желез [96]. Нужно с определенной долей осторожности экстраполировать результаты, полученные на животных в

экспериментальной модели, на человека. Однако эти данные позволяют видеть определенные преимущества использования дидрогестерона на эндометрий женщин с ЭКЯ, особенно перед подготовкой к беременности.

ГЛАВА 6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты морфометрического и иммуногистохимического исследований MMP 1 и 9, CD15 и 45, PDGFR эндометриального и эктопического эндометрия, а также сравнения с нормальным эндометрием приводят к пониманию различий морфометрических характеристик и роли стволовых клеток в патогенезе эндометриоза, значимости металлопротеиназ в развитии эндометриоидных гетеротопий и наличии воспалительного процесса в эктопическом эндометрии. Убеждение в обоснованности назначения длительной гормональной терапии после оперативного вмешательства во избежание рецидива эндометриоидных кист и необходимости поиска новых методов лечения ЭКЯ с учетом значимости стволовых клеток в патогенезе эндометриоза явилось итогом анализа полученных данных. Тем не менее, согласно анализу проспективного наблюдения женщин с ЭКЯ определенным преимуществом в отношении рецидива и подготовки к беременности обладают гестагены.

Полученные результаты позволяют сделать следующие **выводы**:

1. Клинико-anamnestическая оценка пациенток с эндометриоидными кистами яичников и без эндометриоза демонстрирует отсутствие различий по возрасту, началу менархе, альгодисменорее, репродуктивной функции ($p > 0,05$). Статистически значимые различия имеются в отношении гиперполименореи ($p = 0,003$). Статистически достоверных отличий в отношении миомы матки у пациенток с ЭКЯ и без эндометриоза нет ($p = 0,30$). Дисплазия шейки матки достоверно чаще встречается у пациенток с эндометриозом ($p = 0,005$). Для пациенток с ЭКЯ характерен более выраженный спаечный процесс органов малого таза по сравнению с пациентками без эндометриоза ($p = 0,03$). Эндометриоидные кисты встречаются с равной частотой как в правом (38,6%), так и в левом (37,1%) яичниках, двусторонняя локализация в 24,3%.

2. В эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим отмечается достоверное уменьшение площади ядра, толщины секреторной части клетки, толщины железы, толщины цитоплазматической мембраны и средней яркости ядра, что может говорить о меньшей степени пролиферации в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим. Морфометрический анализ указывает на очевидные отличия клеток эутопического и нормального эндометрия (статистически значимые различия при сравнении площади ядра, толщины цитоплазматической мембраны, толщина ядерной мембраны и толщины железы).

3. Для эктопического эндометрия по сравнению с эутопическим характерны более выраженные признаки воспаления, увеличение числа эмСК, стромальных фибробластов, дифференцированных плюрипотентных стволовых клеток, что подтверждают статистически значимые различия по исследуемым иммуногистохимическим маркерам (MMP1 в железе – 34 [31÷38], 0,9 [0,7÷1], $p=0,002$; в строме - 1,25 [0,9÷1,6], 0,9 [0,8÷1], $p=0,001$; MMP9 в железе – 37 [34÷39], 16 [13÷19], $p=0,003$; в строме - 1,6 [1÷2], 2 [1÷3], $p=0,001$; CD15 в железе – 8 [8÷9], 35 [32÷37], $p=0,002$; в строме – 1 [0,8÷1,3], 16 [15÷22], $p=0,003$; CD45 в железе - 0,8 [0,7÷0,9], 21 [18÷22], $p=0,001$; в строме - 0,8 [0,7÷1], 33 [32÷34], $p=0,004$; PDGFR в железе – 9 [8÷10], 38 [38÷41], $p=0,002$; в строме - 1,1 [0,8÷1,4], 18 [17÷19], $p=0,001$).

4. Эутопический эндометрий женщин с ЭКЯ и нормальный эндометрий статистически значимо отличаются по MMP 9 (37 [34÷39], 34 [32÷37,5], $p=0,001$), CD15 (8 [8÷9], 8 [6,5÷8], $p=0,006$), PDGFR (9 [8÷10], 8 [7,5÷9], $p=0,001$) с повышением в железах эутопического эндометрия, CD45 как в железе (0,8 [0,7÷0,9], 1 [0,8÷1], $p=0,0001$), так и в строме (0,8 [0,7÷1], 1 [0,8÷1], $p=0,005$) с преобладанием в нормальном эндометрии. Увеличение уровня MMP9 в эутопическом эндометрии по отношению к нормальному указывает на более высокую пролиферативную активность эутопического эндометрия по сравнению с нормальным, которая лежит в основе развития гиперпластических процессов эндометрия у пациенток с ЭКЯ.

5. После оперативного вмешательства рецидив ЭКЯ наступает независимо от характера использованной терапии в 24,28% случаев при двухлетнем периоде наблюдения, в связи с чем пациентки нуждаются в назначении длительной противорецидивной терапии в послеоперационном периоде.

Практические рекомендации

В связи с высокой частотой наступления рецидива после прекращения терапии в послеоперационном периоде во избежание рецидива кисты необходимо наблюдение за пациентками после оперативного вмешательства по поводу ЭКЯ не менее 2-х лет, а также длительное назначение противорецидивной терапии при отсутствии желания реализовать репродуктивную функцию.

Выбор препаратов должен быть основан на анализе возраста, анамнеза, желания реализовать репродуктивную функцию, овариальном резерве при исключении возможного озлокачествления (в случаях подтвержденного гистологически атипичического эндометриоза).

Учитывая наличие простой гиперплазии без атипии в соскобах из полости матки у пациенток с эндометриоидными кистами яичников, а также доказанного уровня воспаления в эктопическом эндометрии (повышение CD45), показано назначение препаратов, направленных на предупреждение рецидива гиперпластического процесса и снижение воспаления в эктопическом эндометрии (дидрогестерон, диеногест).

Перспективы дальнейшей разработки темы.

Прогнозирование рецидива эндометриомы после оперативного вмешательства с помощью неинвазивных методов диагностики (использование mRNK) с целью обоснования назначения длительной гормональной терапии у угрожаемой по рецидиву когорты пациентов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

CD15-(SSEA) маркер дифференцированных плюрипотентных стволовых клеток человека

CD45- общий антиген лейкоцитов

ERC -Эндометриальные регенерирующие клетки (endometrial regenerative cells)

ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) – Европейское общество по репродукции и эмбриологии человека

HIF-1 α -hypoxia-inducible factor

Oct4-A –транскрипционный фактор, октамер, octamer-binding transcription factor-4

RCOG (Royal College of Obstetricians and Gynecologists) – Королевская коллегия акушеров и гинекологов

PGFR β фактора роста тромбоцитов β (platelet derived growth factor beta)

r-AFS (revised Classification of American Fertility Society) – пересмотренная классификация Американского общества фертильности

SSEA-1 -stage-specific embryonic antigen, стадиеспецифический эмбриональный антиген

аГнРГ-агонист гонадотропин-рилизинг гормона

АМГ – антимюллеров гормон

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ДАБ- раствор субстрата –хромогена

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

E₂ – эстрадиол

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

КОЕ, CFU -самообновляющиеся эпителиальные и стромальные колониеобразующие единицы

КОК – комбинированные оральные контрацептивы

ММР-1- металлопротеиназа - 1

ММР-9- металлопротеиназа - 9

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

РОАГ - российское общество акушеров-гинекологов

СЭФР-сосудисто-эндотелиального фактора роста

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФГБУ РНИИАП МЗ РФ - Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

ЭКГ – электрокардиография

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

ЭКЯ – эндометриоидные кисты яичников

эМСК- эктопические мезенхимальные клетки

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексанова, Е.М. Изменения местного иммунитета у пациенток с эндометриоидными кистами яичников на фоне недифференцированной дисплазии соединительной ткани / Е.М. Алексанова, В.А. Аксененко, О.М. Пилавова // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – №10-2. – С. 245-250.
2. Алексанова, Е.М. Металлопротеиназы, сосудистые факторы и молекулы адгезии у пациенток с эндометриоидными кистами яичников и недифференцированной дисплазией соединительной ткани / Е.М. Алексанова, В.А. Аксененко // *Доктор.Ру*. – 2015. – № 14 (115). – С. 28-31.
3. Алексанова, Е.М. Распределение коллагена I, III и IV типов в стенке эндометриоидных кист яичников / Е.М. Алексанова, В.А. Аксененко, О.М. Пилавова // *Доктор.Ру*. – 2014. – №8-1 (96). – С. 42-44.
4. Алексанова, Е.М. Роль недифференцированной дисплазии соединительной ткани в формировании эндометриоидных кист яичников: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Алексанова Екатерина Мильтиадовна. – М., 2015. – 29 с.
5. Алексанова, Е.М. Эндометриоидные кисты яичников на фоне недифференцированной дисплазии соединительной ткани / Е.М. Алексанова, В.А. Аксененко, О.М. Пилавова // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – № 3. – С. 508.
6. Арешян, К.А. Основные аспекты лечения эндометриоидных кист яичников / К.А. Арешян // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – № 6-0. – С. 260.
7. Ахметшина, Л.Р. Клинический случай: эндометриоидные кисты с редким содержимым / Н.К. Миннулина, Л.Р. Ахметшина // *Практическая медицина*. – 2016. – № 4-2 (96). – С. 75-77.

8. Баранов, В.С. Эндометриоз и миома матки с позиции системной генетики / В.С. Баранов // Журнал акушерства и женских болезней. Спецвыпуск. – 2016. – Т. LXV. – С. 5-7.
9. Бурлев, В.А. Проллиферативная и ангиогенная активность эндометриоидных кист яичника / В.А. Бурлев // Проблемы репродукции. – 2016. – Т. 22, №3. – С. 91-100.
10. Гинекология: Национальное руководство. [2-е изд., перераб. и доп.] / А.Н. Абубакиров, Л.В. Адамян, О.В. Азиев [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 1008 с.
11. Гутикова, Л.В. Значение матриксных металлопротеиназ в патогенезе генитального эндометриоза / Л.В. Гутикова, М.А. Павловская // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2016. – № 4. – С. 49-47.
12. Давыдов, А.И. Эндометриоидные кисты [эндометриомы] яичников: риск озлокачествления, его причины и методы профилактики / А.И. Давыдов, О.В. Чабан // Онкогинекология. – 2012. – № 2. – С. 39-48.
13. Дидрогестерон-гранулы // ЗЛС: официальный сайт Группы компаний РЛС. - ООО «РЛС-Патент», 2000-2018. – URL: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_94810.htm (6.10.2018).
14. Диеногест + Этинилэстрадиол (Dienogest + Ethinylestradiol) // ЗЛС: официальный сайт Группы компаний РЛС. - ООО «РЛС-Патент», 2000-2018. – URL: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_95494.htm (6.10.2018).
15. Дубровина, С.О. Современные представления о спаечном процессе / С.О. Дубровина // Доктор.Ру. – 2016. – №3(120). – С. 34-38.
16. Зулумян, Т.Н. Эндометриоидные кисты яичников и бесплодие: пути преодоления / Т.Н. Зулумян // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2017. – №3(17). – С. 92-97.
17. Иммуногистохимическая экспрессия ядерного фактора гепатоцитов-1beta [hnf-1b], маркеров пролиферации и апоптоза в очагах эндометриоза яичников /

- Т.А. Громова, О.В. Зайратьянц, М.А. Антошечкина [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2017. – Т. 23, №3. – С. 16-21.
18. Иммуногистохимические особенности экспрессии об-метилгуанин-днк-метилтрансферазы при эндометриозе яичников / А.И. Щеголев, А.Г. Быков, Н.М. Файзуллина, Л.В. Адамян // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 164, №9. – С. 372-376.
19. Качалина, Т.С. Комплексная оценка факторов риска развития рецидива эндометриоидных кист яичников / Т.С. Качалина, А.Н. Зиновьев, М.Е. Богатова // Медицинский альманах. – 2017. – № 1 (46). – С. 107-110.
20. Качалина, Т.С. Рецидивы эндометриоидных кист: факторы риска и профилактика / Т.С. Качалина, А.Н. Зиновьев, М.Е. Зяблова // Эффективная фармакотерапия. – 2016. – №14. – С. 6-10.
21. Качество жизни и сексуальная функция у пациенток с эндометриоидными кистами яичников / Е.Д. Дубинская, А.А. Дутов, О.Э. Барабанова [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2016. – Т. 15, № 4. – С. 24-30.
22. Классификации эндометриоза / Э.К. Айламазян, М.И. Ярмолинская, А.С. Молотков, Д.З. Цицкарава // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66, №2. – С. 77-92.
23. Клиника и диагностика генитального эндометриоза / М.И. Ярмолинская, Е.И. Русина, А.Р. Хачатурян, М.С. Флорова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – Т. 65, № 5. – С. 4-21.
24. Колосов, А.Е. Опухоли яичников и прогноз для больных: рук-во для врачей / А.Е. Колосов. – Киров: КГМА, 1996. – 240 с.
25. Красильникова, Л.В. Клинико-морфологические аспекты формирования эндометриоидных кист яичников: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Красильникова Лилия Викторовна. – М., 2017. – 28 с.

- 26.Красильникова, Л.В. Эндометриоз: морфологические аспекты, диагностика, современная терапевтическая тактика / Л.В. Красильникова // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 294.
- 27.Краснопольский, В.И. Влияние хирургического лечения двусторонних эндометриоидных кист яичников на фолликулярный резерв при эндометриоз-ассоциированном бесплодии / В.И. Краснопольский, С.Л. Горский // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2009. – Т. 9, № 5. – С. 60-63.
- 28.Куземенская, М.Л. Эндометриоз яичников, как причина бесплодия у женщин / М.Л. Куземенская, Т.И. Поддубная // Научная дискуссия: вопросы медицины. – 2016. – № 5 (36). – С. 39-47.
- 29.Ланг, Т.А. Как описывать статистику в медицине / Т.А. Ланг, М. Сесик. – М.: Практ. мед., 2011. – 480 с.
- 30.Ларин К.В. Эндометриоидные кисты как источник оксидативного стресса в яичниках / К.В. Ларин, К.А. Бугеренко // Журнал акушерства и женских болезней. Спецвыпуск. – 2017. – Т. 66. – С. 37-38.
- 31.Леваков, С.А. Исследование тканевой активности металлопротеиназ при гетерогенных формах аденомиоза / С.А. Леваков, А.П. Коробейников, Т.А. Демура // Клиническая практика. – 2010. – № 3. – С. 52-55.
- 32.Лысенко, М.А. Опыт применения инновационных клеточных технологий в диагностике эндометриоидных кист яичников / М.А. Лысенко, В.Б. Метелин, Н.В. Баранова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2012. – Т. 26, № 2. – С. 33-36.
- 33.Марченко, Л.А. Эндометриоз: современный взгляд на этиопатогенез и перспективы. медикаментозного лечения / Л.А. Марченко, Л.М. Ильина // Русский медицинский журнал. – 2010. – Т. 18, № 4. – С. 171-175.
- 34.Менеджмент эндометриом / С.О. Дубровина, Ю.Д. Берлим, В.С. Гимбут [и др.] // Гинекология. – 2017. – №4(19). – С. 30-35.

35. Мусаев, Р.Д.О. Функциональное состояние яичников после различных методов хирургического вмешательства у больных с эндометриоидными кистами / Р.Д.О. Мусаев, О.В. Чабан, А.И. Давыдов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2011. – Т. 10, № 5. – С. 5-11.
36. Нажмутдинова, Д.К. Методические подходы к диагностике рецидива после операции по поводу эндометриоза яичников / Д.К. Нажмутдинова, Н.П. Матчанова, А.В. Ан // Врач-аспирант. – 2010. – Т. 39, № 2. – С. 66-72.
37. Овариальный резерв и эндометриоидные кисты яичников: клинические и ультразвуковые аспекты / Е.Д. Дубинская, А.С. Гаспаров, А.А. Дутов [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2017. – Т. 16, №4. – С. 27-34.
38. Орлов, А.И. Прикладная статистика / А.И. Орлов. – М.: Экзамен, 2006. – 671 с.
39. Отдаленные результаты лечения бесплодия у пациенток с эндометриоидными кистами яичников с использованием вспомогательных репродуктивных технологий / Е.Д. Дубинская, А.А. Торгомян, Д.С. Титов [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2014. – №1 (115). – С. 32-37.
40. Оценка комплексного применения аргоноплазменной хирургии и фибринового криопреципитата на функциональное состояние яичников у пациенток с эндометриоидными кистами / А.Н. Стрижаков, А.И. Давыдов, И.В. Игнатко [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2016. – Т. 15, № 6. – С. 5-11.
41. Патологическая физиология / В.А. Фролов, Г.А. Дроздова, Т.А. Казанская [и др.] – М.: Экономика, 1999. – 616 с.
42. Печеникова, В.А. Клинико-морфологические и морфофункциональные особенности эндометриоза яичников / В.А. Печеникова, Д.Ф. Костючек, Е.Н. Дурасова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. LIX, №5. – С. 110-117.

- 43.Печеникова, В.А. Клинико-морфологический анализ эффективности гормональной терапии наружного и внутреннего генитального эндометриоза / В.А. Печеникова, Д.Ф. Костючек, Е.Н. Дурасова // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2010. – № 4. – С. 87-91.
- 44.Прогнозирование рецидива эндометриoidных кист яичников / С.О. Дубровина, Ю.Д. Берлим, Л.В. Красильникова [и др.] // Фарматека. – 2017. – № 12 (345). – С. 51-55.
- 45.Сатуева, Э.Ж. Эндометриоз / Э.Ж. Сатуева, Х.М. Мурадова, В.В. Скворцов // Медицинская сестра. – 2017. – № 1. – С. 18-22.
- 46.Сахаутдинова, И.В. Тактика ведения пациенток репродуктивного возраста после цистэктомии по поводу эндометриомы на этапе амбулаторно-поликлинического звена / И.В. Сахаутдинова, Т.П. Кулешова, Р.Н. Хабибуллина // Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т. 19, № 6. – С. 55-59.
- 47.Сидорова, И.С. Особенности терапии эндометриoidных кист яичников / И.С. Сидорова, А.Л. Унанян // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2011. – Т. 5, № 1. – С. 29-32.
- 48.Сидорова, И.С. Рецидивирующий и нероцидивирующий эндометриоз яичников: клинико-патогенетические механизмы / И.С. Сидорова, А.Л. Унанян, Е.А. Коган // Эффективная фармакотерапия. – 2011. – № 2. – С. 38-42.
- 49.Современные аспекты патогенеза и диагностики аденомиоза / К.М. Джамалутдинова, И.Ф. Козаченко, А.И. Гус, Л.В. Адамян // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 1. – С. 29-34.
- 50.Современные возможности лечения эндометриoidных кист яичников / И.А. Лапина, Ю.Э. Доброхотова, М.В. Гаврилов [и др.] // Гинекология. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 42-45.

- 51.Современные методы диагностики и лечения эндометриоза яичников / И.В. Сахаутдинова, Г.Т. Мустафина, Р.Н. Хабибуллина, Е.И. Яркина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2015. – Т. 10, № 1. – С. 113-117.
- 52.Современные представления об эндометриоидных кистах яичников / С.О. Дубровина, Ю.Д. Берлим, В.С. Гимбут [и др.] // Проблемы репродукции. – 2015. – №3(21). – С. 98-105.
- 53.Современные представления об эндометриоидных кистах яичников / С.О. Дубровина, Ю.Д. Берлим, В.С. Гимбут [и др.] // Проблемы репродукции. – 2015. – №3(21). – С. 98-104.
- 54.Современный взгляд на овариальный резерв у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников / Е.С. Филиппова, И.Ф. Козаченко, А.Г. Быков [и др.] // Проблемы репродукции. – 2017. – Т. 23, № 2. – С. 72-80.
- 55.Тезиков, Ю.В. Классификации гинекологических заболеваний / Ю.В. Тезиков, И.С. Липатов, О.Б. Калинин // Оформление клинической истории болезни у гинекологической больной. – Самара, 2016. – Гл. 2. – С. 16-51.
- 56.Трудности диагностики кистозной формы аденомиоза / К.М. Джамалудинова, И.Ф. Козаченко, А. И. Щеголев, Л.В. Адамян // Материалы XII конгресса по репродуктивной медицине. – М., 2018. – С. 76-78.---17
- 57.Хакимова, Г.А. Патологическая оценка кист яичника / Г.А. Хакимова, Ж.Ф. Арифджанова // Medicus. – 2016. – №5 (11). – С. 28-29.
- 58.Хе, Ю.Д. Значение желатиназ в развитии аденомиоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Хе Юлия Дыкчеровна. — М., 2010. – 23 с.
- 59.Щукина, Н.А. Современный взгляд на диагностику и лечение эндометриоза / Н.А. Щукина, С.Н. Буянова // Русский медицинский журнал. – 2014. – №14. – С. 1002-1005.
- 60.Эндометриальная дисфункция: алгоритм гистологического и иммуногистохимического исследования / Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль,

- М.А. Клещев [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2015. – Т. 64, № 4. – С. 69-77.
- 61.Эндометриоз: Диагностика, лечение и реабилитации. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева, И.А. Аполихина [и др.]. – М., 2013. – 65 с.
- 62.Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация. Клинические рекомендации / МЗ РФ. – М., 2013. – 51 с.
- 63.Эндометриоз: от трудностей диагностики к новым возможностям терапии / В.Н. Прилепская, Е.В. Иванова, А.В. Тагиева [и др.] // Гинекология. – 2012. – № 4. – С. 4-8.
- 64.Эндометриозидные кисты яичников и фертильность: дискуссионные аспекты / Е.Д. Дубинская, А.А. Дутов, Н.В. Лаптева [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2015. – Т. 14, №5. – С. 27-35.-23
- 65.Эндометриозидные образования яичников: особенности экспрессии рецепторов стероидных гормонов в ткани / Г.М. Савельева, А.А. Соломатина, Е.Н. Карева [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2015. – Т. 14, №5. – С. 5-10.
- 66.Эффективность терапии пациенток с эндометриозидными кистами яичников / О.Б. Калинин, Ю.В. Тезиков, Т.А. Тезикова [и др.] // Аспирантский вестник Поволжья. – 2016. – № 1-2. – С. 21-26.
- 67.A novel marker of human endometrial mesenchymal stem-like cells / H. Masuda, S. S. Anwar, H-J. Bühring [et al.] // Cell. Transplant. –2012. – Vol. 21, N 10. – P. 2201-2214.
- 68.Adamson, G.D. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system / G.D. Adamson, D.J. Pasta // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 94, N 5. – P. 1609-1615.

69. Adamyan, L.V. Endometriosis: diagnosis, treatment and rehabilitation. Clinical practice guidelines for the management of patients / L.V. Adamyan. – Moscow, 2013. – 58 p.
70. Adhesion Barrier Use After Myomectomy and Hysterectomy: Rates and Immediate Postoperative Complications / T. Tulandi, F. Closon, N. Czuzoj-Shulman [et al.] // *Obstet Gynecol.* – 2016. – Vol. 127, N 1. – P. 23-28.
71. Anti-Müllerian hormone trend after laparoscopic surgery in women with ovarian endometrioma / P. Litta, G. D'Agostino, L. Conte [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 29, N 5. – P. 452-454.
72. Association between MMP1 and MMP9 activities and ICAM1 cleavage induced by tumor necrosis factor in stromal cell cultures from Eutopic endometrial of women with endometriosis / M. Pino, C. Galleguillos, M. Torres [et al.] // *Reproduction.* – 2009. – Vol. 138, N 5. – P. 837-847.
73. Barrier agents for adhesion prevention after gynaecological surgery / G. Ahmad, H. O'Flynn, A. Hindocha [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2015. – Vol. 30, N 4. – CD000475.
74. Batt, R.A. History of Endometriosis / R.A. Batt. – London: Springer Science & Business Media, 2011. – 136 p.
75. 'Blood on the tracks' from corpora lutea to endometriomas / P. Vercellini, E. Somigliana, P. Vigano [et al.] // *BJOG.* – 2009. – Vol. 116, N 3. – P. 366-371.
76. Brosens, I. Is neonatal uterine bleeding involved in the pathogenesis of endometriosis as a source of stem cells? / I. Brosens, G. Benagiano // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 100. – P. 622-623.
77. Brosens, I. Neonatal uterine bleeding as antecedent of pelvic endometriosis / I. Brosens, J. Brosens, G. Benagiano // *Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 28. – P. 2893-2897.
78. Casper, R.F. Progestin-only pills may be a better first-line treatment for endometriosis than combined estrogen-progestin contraceptive pills / R.F. Casper // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 107, N 3. – P. 535-536.

79. Chambers, I. The transcriptional foundation of pluripotency / I. Chambers, S.R. Tomlinson // *Development*. – 2009. – Vol. 136, N 14. – P. 2311-2322.
80. Chan, R.W. Yeung Identification of cells with colony-forming activity, self-renewal capacity, and multipotency in ovarian endometriosis / R.W. Chan, E.H. Ng, W.S. Yeung // *Am. J. Pathol.* – 2011. – Vol. 178. – P. 2832-2844.
81. Characterization of clonogenic stromal cells isolated from human endometrium / R. Dimitrov, T. Timeva, D. Kyurkchiev [et al.] // *Reprod.* – 2008. – Vol. 135. – P. 551–558.
82. Characterization of side-population cells in human normal endometrium / K. Kato, M. Yoshimoto, K. Kato [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22. – P. 1214-1223.
83. Chinese guidelines on endometriosis // *Chin J. Obstet. Gynecol.* – 2007. – Vol. 42. – P. 645-650.
84. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. CNGOF Guidelines for the Management of Endometriosis. – CNGOF, 2006. – Is. 29, Nov.
85. Combined blockade of angiotensin II type 1 receptor and activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ by telmisartan effectively inhibits vascularization and growth of murine endometriosis-like lesions / A. Nenicu, C. Körbel, Y. Gu [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2014. – Vol. 29. – P. 1011-1024.
86. Common chromosomal imbalances and stemness-related protein expression markers in endometriotic lesions from different anatomical sites: the potential role of stem cells / C.G. Silveira, M.S. Abrao, J.A. Dias [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2012. – Vol. 27. – P. 3187-3197.
87. Comparative study of human eutopic and ectopic endometrial mesenchymal stem cells and the development of an in vivo endometriotic invasion model / A.P. Kao, K.H. Wang, C.C. Chang [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 95. – P. 1308-1315.
88. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing / G. Chamberlain, J. Fox, B. Ashton, J. Middleton // *Stem. Cells.* – 2007. – Vol. 25. – P. 2739-2749.,,,,,,,,,,84

- 89.Cousins, F.L. Adult stem cells in the pathogenesis and treatment of endometriosis / F.L. Cousins, L. Xiao, C. Gargett // *J. Endometr. Pelvic Pain Disord.* – 2017. – Vol. 9, N 4. - P. 223-231.
- 90.De Ziegler, D. Endometriosis and infertility: Pathophysiology and management / D. de Ziegler, B. Borghese, C. Chapron // *Lancet.* – 2010. – Vol. 376, N 9742. – P. 730–738.
- 91.D'Hooghe, T.M. Endometriosis, retrograde menstruation and peritoneal inflammation in women and in baboons / T. M. D'Hooghe, S. Debrock // *Hum. Reprod. Update.* – 2002. – Vol. 8. – P. 84-88.
- 92.Differential immunohistochemical expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in cow uteri with adenomyosis during follicular phase / L. Moreira, E.C. de Carvalho, M.C. Caldas-Bussiere [et al.] // *Vet. Res. Commun.* – 2011. – Vol. 3, N 55. – P. 261-269.
- 93.Du, H. Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis / H. Du, H. S. Taylor // *Stem Cells.* – 2007. – Vol. 25. – P. 2082-2086.
- 94.Duke, C. Stem cells and the reproductive system: historical perspective and future directions / C. Duke, H. Taylor // *Maturitas.* – 2013. – Vol. 76. – P. 284-289.
- 95.Effects of long-term postoperative dienogest use for treatment of endometriosis on bone mineral density / J.W. Seo, D.Y. Lee, B.K. Yoon [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 212. – P. 9-12.
- 96.Efficacy, safety and recurrence of new progestins and selective progesterone receptor modulator for the treatment of endometriosis: a comparison study in mice / B. Liang, L. Wu, H. Xu [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 16, N 1. – P. 32.
- 97.Electrocoagulation versus suture after laparoscopic stripping of ovarian endometriomas assessed by antral follicle count: preliminary results of randomized clinical trial / M. Coric, D. Barisic, D. Pavicic [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2011. – Vol. 283. – P. 373-378.

98. Endometrial adult/progenitor stem cells: Pathogenetic theory and new antiangiogenic approach for endometriosis therapy / G. Pittatore, A. Moggio, C. Benedetto [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2013. – Vol. 21. – P. 296-304.
99. Endometrial cells from women with endometriosis have increased adhesion and proliferative capacity in response to extracellular matrix components: towards a mechanistic model for endometriosis progression / P.A. Klemmt, J.G. Carver, P. Koninckx [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22. – P. 3139-3147.
100. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population / X. Meng, T. E. Ichim, J. Zhong [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2007. – Vol. 5. – P. 57.
101. Endometrial stem/progenitor cells in menstrual blood and peritoneal fluid of women with endometriosis / C.E. Gargett, C. Tan, H. Masuda [et al.] // 11th World Congress on Endometriosis. – Montpellier, France, 4-7 September 2011.
102. Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium / G. Leyendecker, M. Herbertz, G. Kunz, G. Mall // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 2725-2736.
103. Endometriosis--a stem cell disease? / A. Starzinski-Powitz, A. Zeitvogel, A. Schreiner, R. Baumann // *Zentralbl. Gynakol.* – 2003. – Vol. 125. – P. 235-238.
104. Endometriosis-pathogenesis, diagnosis and therapeutic options for clinical and ambulatory care / K.W. Schweppe, T. Rabe, M. Langhardt [et al.] // *Reproduktionsmed. Endokrinol.* – 2013. – Vol. 10, N 1. – P. 102-119.
105. Epigenetic regulation of endometrium during the menstrual cycle / S. K. Munro, C. M. Farquhar, M. D. Mitchell, A. P. Ponnampalam // *Mol. Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 16, N 5. – P. 297-310.
106. ESHRE guideline: management of women with endometriosis [Text] / G.A.J. Dunselman, N. Vermeulen, C. Becker [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2014. – Vol. 29, N 3. – P. 400-412.
107. Excisional surgery versus ablative surgery for ovarian endometriomata / R.J. Hart, M. Hickey, P. Maouris, W. Buckett // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2008. – Vol. 2. – CD004992.

108. Expression of Oct-4 and c-KIT antigens in endometriosis / A. Pacchiarotti, D. Caserta, M. Sbracia, M. Moscarini // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 95. – P. 1171-1173.
109. Expression of vascular endothelial growth factor [VEGF], hypoxia inducible factor-1alpha [HIF-1alpha], and microvessel density in endometrial tissue in women with adenomyosis / G. Goteri, G. Lucarini, N. Montik [et al.] // *J. Gynecol. Pathol.* – 2009. – Vol. 28. – P. 157-163.
110. Expression pattern of stemness-related genes in human endometrial and endometriotic tissues / A. Forte, M. T. Schettino, M. Finicelli [et al.] // *Mol. Med.* – 2009. – Vol. 15. – P. 392-401.
111. Fast-track surgery in intesnal deep in ltrave endometriosis / V.C. Pissetti, R.D. Nunes, M.T. Zomer, W. Kondo // *J. Endometr. Pelvic Pain Disord.* – 2017. – Vol. 9, N 4. – P. 263-269.
112. Gargett, C.E. Adult stem cells in the endometrium / C.E Gargett, H. Masuda // *Mol. Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 16, N 11. – P. 818-834.
113. Gargett, C.E. Uterine stem cells: What is the evidence? / C.E. Gargett // *Hum. Reprod. Update.* – 2007. – Vol. 13. – P. 87-101.
114. Genetics of endometriosis: current status and prospects / P. Vigano, E. Somigliana, M. Vignali [et al.] // *Front Biosci.* – 2007. – Vol. 12. – P. 3247-3255.
115. Giudice, L.C. Genomics role in understanding the pathogenesis of endometriosis / L.C. Giudice // *Semin. Reprod. Med.* – 2003. – Vol. 21, N 2. – P. 119-124.
116. Giudice, L.C. Microarray expression pro ling reveals candidate genes for human uterine receptivity / L.C. Giudice // *Am. J. Pharmacogenomics.* –2004. – Vol. 4, N 5. – P. 299-312.
117. Guay, S. Stable inhibition of interleukin 1 receptor type II in Ishikawa cells augments secretion of matrix metalloproteinases: possible role in endometriosis pathophysiology / S. Guay, A. Akoum // *Reprod.* – 2007. – Vol. 134. – P. 525-534.
118. Guo, S.W. Epigenetics of endometriosis / S.W. Guo // *Mol. Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 15. – P. 587-607.

119. High rate of endometriosis recurrence in young women / I. Tandoi, E. Somigliana, J. Riparini [et al.] // *J. Pediatr. Adolesc. Gynecol.* – 2011. – Vol. 24. – P. 376-379.
120. Higher expression of vascular endothelial growth factor [VEGF] and its receptor VEGFR-2 [Flk-1] and metalloproteinase-9 [MMP-9] in a rat model of peritoneal endometriosis is similar to cancer diseases / D.E. Machado, P.T. Berardo, C.Y. Palmero [et al.] // *J. Experimental Clin. Cancer. Res.* – 2010. – Vol. 29, N 1. – P. 4.
121. Histologic analysis of endometriomas: what the surgeon needs to know / L. Muzii, A. Bianchi, F. Bellati [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 87, N 2. – P. 362-366.
122. Human Endometrial Fibroblasts Derived from Mesenchymal Progenitors Inherit Progesterone Resistance and Acquire an Inflammatory Phenotype in the Endometrial Niche in Endometriosis / F. Barragan, J.C. Irwin, S. Balayan, [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2016. – Vol. 94, N 5. – P. 118.
123. Human Endometrial Side Population Cells Exhibit Genotypic, Phenotypic and Functional Features of Somatic Stem Cells / I. Cervello, C. Gil- Sanchis, A. Mas [et al.] // *PLoS One.* – 2010. – Vol. 5, N 6. – P. e10964.,,,,,,,81
124. Hypoxia modulates the undifferentiated phenotype of human renal inner medullary CD133⁺ progenitors through Oct4/miR-145 balance / B. Bussolati, A. Moggio, F. Collino [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2012. – Vol. 302. – P. 116-128.
125. Identification, characterization and co-localization of label-retaining cell population in mouse endometrium with typical undifferentiated markers / I. Cervello, J.A. Martínez-Conejero, J.A. Horcajadas [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22. – P. 45-51.
126. Increased expression of the adult stem cell marker Musashi-1 in endometriosis and endometrial carcinoma / M. Gotte, M. Wolf, A. Staebler [et al.] // *J. Pathol.* – 2008. – Vol. 215. – P. 317-329.

127. Iranian Society for Reproductive Medicine. Clinical Guide Endometriosis. - Published by ISRM, 2012. – URL: www.isrm.ir/Farsi/Default.aspx (Accessed 3 December 2013).
128. Isolation and culture of epithelial progenitors and mesenchymal stem cells from human endometrium / C.E. Gargett, K.E. Schwab, R.M. Zillwood [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2009. – Vol. 80. – P. 1136-1145.
129. Kaiser, R. Incidence and intensity of uterine bleeding in the neonate / R. Kaiser, G. Grassel // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 1974. – Vol. 34. – P. 644-648.
130. Laparoscopic cystectomy for ovarian endometrioma – a simple stripping technique should not be used / W. Kondo, N. Bourdel, M. T. Zomer [et al.] // *J. Endometriosis.* – 2011. – Vol. 3, N 3. – P. 125-134.
131. Llarena, N. Strategies to preserve and optimize fertility for patients with endometriosis / N. Llarena, R. Flyckt // *J. Endometr. Pelvic. Pain Disord.* – 2017. – Vol. 9, N 2. – P. 98-104.
132. Luciano, D.E. Adhesion reformation after laparoscopic adhesiolysis: where, what type, and in whom they are most likely to recur / D.E. Luciano, G. Roy, A.A. Luciano // *J. Minim Invasive Gynecol.* – 2008. – Vol. 15, N 1. – P. 44-48.
133. Maruyama, T. Stem cell theory for the pathogenesis of endometriosis / T. Maruyama, Y. Yoshimura // *Front Biosci.* – 2012. – Vol. 4. – P. 2854-2863.
134. Matrix metalloproteinase-3 mRNA: a promising peripheral blood marker for diagnosis of endometriosis / P. De Sanctis, A. Elmakky, A. Farina [et al.] // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2011. – Vol. 71, N 2. – P. 118-123.
135. Matrix metalloproteinases are elevated in the urine of patients with endometriosis / C.M. Becker, G. Louis, A. Exarhopoulos [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94, N 6. – P. 2343-2346.
136. Matrix metalloproteinases in premature coronary atherosclerosis: influence of inhibitors, inflammation, and genetic polymorphisms / S. Nanni, G. Melandri, R. Hanemaaijer [et al.] // *Transl. Res.* – 2007. – Vol. 149. – P. 137-144.

137. May, K.E. Peripheral biomarkers of endometriosis a systematic review / K.E. May, S.A. Conduit-Hulbert, J. Villar // Hum. Reprod. Update. – 2010. – Vol.16. – P. 651-674.
138. McLaren, J. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis / J. McLaren // Hum. Reprod. Update. – 2000. – Vol. 6. – P. 45-55.
139. Mechanistic and therapeutic implications of angiogenesis in endometriosis / R.N. Taylor, J. Yu, P.B. Torres [et al.] // Reprod Sci. – 2009. –Vol. 16. – P. 140-146.
140. Menstrual blood cells display stem cell-like phenotypic markers and exert neuroprotection following transplantation in experimental stroke / C.V. Borlongan, Y. Kaneko, M. Maki [et al.] // Stem Cells Dev. – 2010. – Vol. 19. – P. 439-452.
141. Menstrual blood-derived cells confer human dystrophin expression in the murine model of Duchenne muscular dystrophy via cell fusion and myogenic transdifferentiation / C.H. Cui, T. Uyama, K. Miyado [et al.] // Mol. Biol. Cell. – 2007. – Vol. 18. – P.1586-1594.
142. Morelli, S.S. Experimental evidence for bone marrow as a source of nonhematopoietic endometrial stromal and epithelial compartment cells in a murine model / S.S. Morelli, P. Rameshwar, L.T. Goldsmith // Biol. Reprod. – 2013. – Vol. 89. P.1-7.
143. Multipotent menstrual blood stromal stem cells: isolation, characterization, and differentiation / A.N. Patel, E. Park, M. Kuzman [et al.] // Cell Transplant. – 2008. – Vol. 17. – P. 303-311.
144. Muzii, L. Comment on «Endometrioma-associated infertility: is surgery still the best way to go?» / L. Muzii // J. Endomet. Pelvic Pain Disorders. – 2014. – Vol. 6, N 1. – P. 64-65. .
145. New treatment strategies and emerging drugs in endometriosis / I. Streuli, D. de Ziegler, B. Borghese [et al.] // Expert. Opin. Emerging Drugs. – 2012. – Vol. 17, N 1. – P. 83-104.
146. Newby, A.C. Studying mechanisms underlying shedding of endothelial membrane proteins could help patients at risk for myocardial infarction / A.C. Newby // Cardiovasc Res. – 2005. – Vol. 67, N 1. – P. 45.

147. Nezhat, C. Endometriosis: ancient disease, ancient treatments / C. Nezhat, F. Nezhat, C. Nezhat // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98, N 6, Supp 1. – S.1-62.
148. Novel cardiac precursor-like cells from human menstrual blood-derived mesenchymal cells / N. Hida, N. Nishiyama, S. Miyoshi [et al.] // *Stem Cells.* – 2008. – Vol. 26. – P. 1695-1704.
149. Ober, W.B. Observations on the endometrium and ovary in the newborn / W.B. Ober, J. Bernstein // *Pediatrics.* – 1955. – Vol. 16. – P. 445-460.
150. Oct-4 expression in human endometrium / C. Matthai, R. Horvat, M. Noe [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2006. – Vol. 12. – P. 7-10.
151. Padykula, H.A. Regeneration in the primate uterus: the role of stem cells / H.A. Padykula // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1991. – Vol. 622. – P. 47-56.
152. Pathogenesis of endometriosis: the role of defective «immunosurveillance» / G. Christodoulakos, A. Augoulea, I. Lambrinouadaki [et al.] // *Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care.* – 2007. – Vol.12. – P.194-202.
153. Perivascular human endometrial mesenchymal stem cells express pathways relevant to self-renewal, lineage specification, and functional phenotype / T.L.B. Spitzer, A. Rojas, Z. Zelenko [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2012. – Vol. 86, N 2. – P. 58.
154. Pluripotency regulators in human mesenchymal stem cells: expression of NANOG but not of OCT-4 and SOX-2 / E. Pierantozzi, B. Gava, I. Manini [et al.] // *Stem. Cells Dev.* – 2011. – Vol. 20. – P. 915-923.
155. Polymorphisms in the promoter regions of the matrix metalloproteinases-7, -9 and the risk of endometriosis and adenomyosis in China / K. Shan, Z. Lian-Fu, D. Hui [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2006. – Vol. 12, N 1. – P. 35-39.
156. Possible involvement of nerve growth factor in dysmenorrhea and dyspareunia associated with endometriosis / T. Kajitani [et al.] // *Endocr. J.* – 2013. – Vol. 60, N 10. – P. 155-164.
157. Post-operative endometriosis recurrence: a plea for prevention based on pathogenetic, epidemiological and clinical evidence / P. Vercellini, E. Somigliana, P. Vigano [et al.] // *Reprod. Bio Med. Online.* – 2010. – Vol. 21. – P. 259-265.

158. Postoperative medical therapy after surgical treatment of endometriosis: from adjuvant therapy to tertiary prevention / E. Somigliana, P. Vercellini, P. Vigano [et al.] // *J. Minimally Invasive Gynecol.* – 2014. – Vol. 21. – P. 328-334.
159. Potential role of endometrial stem/progenitor cells in the pathogenesis of early-onset endometriosis / C.E. Gargett, K.E. Schwab, J.J. Brosens [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2014. – Vol.20, N 07. – P. 591-598.
160. Prianishnikov, V.A. On the concept of stem cell and a model of functional-morphological structure of the endometrium / V.A. Prianishnikov // *Contraception.* – 1978. – Vol. 18. – P. 213-223.
161. Progesterone and bone: a closer link than previously realized. / V. Seifert-Klauss, M. Schmidmayr, E. Hobmaier, T. Wimmer // *Climacteric.* – 2012. – Suppl. 1. – P. 26-31.
162. Progestins inhibit expression of MMPs and of angiogenic factors in human ectopic endometrial lesions in a mouse model / V. Monckedieck, C. Sannecke, B. Husen [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 15. – P. 635-643.
163. Recognizing endometriosis as a social disease: the European Union-encouraged Italian Senate approach / L. Bianconi, L. Hummelshoj, M. E. Coccia [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 88, N 5. – P. 1285-1287.
164. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision: risk factors and prevention / N. Ouchi, S. Akira, K. Mine [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2014. – Vol. 40, N 1. – P. 230-236.
165. Reliability of the visual diagnosis of ovarian endometriosis / P. Vercellini, N. Vendola, L. Bocciolone [et al.] // *Fertil. Steril.* – 1991. – Vol. 56, N 6. – P. 1198-1200.
166. Research priorities for endometriosis: Recommendations from a global consortium of investigators in endometriosis / P.A. Rogers, G.D. Adamson, M. Al-Jefout [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2017. – Vol. 24, N 2. – P. 202-226.
167. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis / J. Halme, M.G. Hammond, J.F. Hulka [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 1984. – Vol. 64, N 2. – P. 151-154.-----113

168. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996 / American Society for Reproductive Medicine // *Fertil. Steril.* – 1997. – Vol. 67, N 5. – P. 817-821.
169. Sampson, J.A. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity / J.A. Sampson // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1927. – Vol. 14. – P. 422-469.
170. Schwab, K.E. Co-expression of two perivascular cell markers isolates mesenchymal stem-like cells from human endometrium / K.E. Schwab, C.E. Gargett // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22, N 11. – P. 2903-2911.
171. Second surgery for recurrent endometriomas is more harmful to healthy ovarian tissue and ovarian reserve than first surgery / L. Muzii, C. Achilli, F. Lecce [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2015. – Vol. 103. – P. 738-743.
172. Somatic stem cells in the human endometrium / I. Cervelló, A. Mas, C. Gil-Sanchis, C. Simón // *Semin. Reprod. Med.* – 2013. – Vol. 31, N 1. – P. 69-76.
173. Sorafenib blocks tumour growth, angiogenesis and metastatic potential in preclinical models of osteosarcoma through a mechanism potentially involving the inhibition of ERK1/2, MCL-1 and ezrin pathways / Y. Pignochino, G. Grignani, G. Cavalloni [et al.] // *Mol. Cancer.* – 2009. – Vol. 8. – P. 118.
174. Sorafenib inhibits growth, migration, and angiogenic potential of ectopic endometrial mesenchymal stem cells derived from patients with endometriosis / A. Moggio, G. Pittatore, P. Cassoni [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98. – P. 1521-1530.
175. Spatial and temporal characterization of endometrial mesenchymal stem-like cells activity during the menstrual cycle / X. Shan, R.W. Chan, E.H. Ng, W.S. Yeung // *Exp. Cell Res.* – 2017. – Vol.350, N 1. – P. 184-189.
176. SSEA-1 isolates human endometrial basal glandular epithelial cells: phenotypic and functional characterization and implications in the pathogenesis of endometriosis / A.J. Valentijn, K. Palial, H. Al-Lamee [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 28, N 10. – P. 2695-2708.

177. Stefansson, H. Genetic factors contribute to the risk of developing endometriosis / H. Stefansson, R.T. Geirsson, V. Steinhorsdottir // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 555-559.
178. Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration / H. Masuda, Y. Matsuzaki, E. Hiratsu [et al.] // *PLoS One* 2010. – Vol. 5. – P. e10387.
179. Stem cells: are they the answer to the puzzling etiology of endometriosis? / F.R. Oliveira, C. Dela Cruz, H. L. Del Puerto [et al.] // *Histol. Histopathol.* – 2012. – Vol. 27. – P. 23-29.
180. Surgery for the management of ovarian endometriomas: from the physiopathology to the pre-, peri- and postoperative treatment / N. Bourdel, H. Roman, G. Mage, M. Canis // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2011. – Vol. 39, N 12. – P. 709-721.
181. Taylor, H.S. Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients / H.S. Taylor // *JAMA.* – 2004. – Vol. 292. – P. 81-85.
182. Terruhn, V. Changes in the shape of the uterine cervix and the development of its epithelium from birth to adolescence. A vaginoscopic study / V. Terruhn // *Arch. Gynecol.* – 1980. – Vol. 229. – P. 123-136.
183. The effect of second-line surgery on reproductive performance of women with recurrent endometriosis: a systematic review / P. Vercellini, E. Somigliana, P. Vigano [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2009. – Vol.88, N 10. – P. 1074-1082.
184. The Role of Stem Cells in the Etiology and Pathophysiology of Endometriosis / D. Hufnagel, F. Li, T. Cosar [et al.] // *Semin. Reprod. Med.* – 2015. – Vol. 33. – P. 333-340.
185. Ubaldi, F.M. Comment on «Endometrioma-associated infertility: is surgery still the best way to go?» / F.M. Ubaldi // *J. Endomet. Pelvic Pain Disorders.* – 2014. – Vol. 6, N 1. – P. 62-63.

186. Unravelling the ovarian endometrioma pathogenesis: “The long and winding road” across the various theories / P. Viganò, V. Vanni, L. Corti [et al.] // *J. Endomet. Pelvic Pain Disorders.* – 2013. – Vol. 5, N 2. – P. 62-67.
187. Vascular endothelial growth factor [VEGF] in endometriosis / J. Donnez, P. Smoes, S. Gillerot [et al.] // *Hum. Reprod.* – 1998. – Vol. 13. – P. 1686-1690.
188. Visible and occult microscopic lesions of endometriosis / K. Khan, M. Kitajima, K. Hiraki [et al.] // *Gynecol. Minim. Invas. Therapy.* – 2014. – Vol. 3, N 4. – P. 109-114.
189. "Waiting for Godot": a commonsense approach to the medical treatment of endometriosis / P. Vercellini, P. Crosignani, E. Somigliana [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26. – P. 3-13.