На правах рукописи

Тимофеева Юлия Сергеевна

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ПРОТЕОГЛИКАНОВ В ЭУ- И ГЕТЕРОТОПИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИИ ПРИ ЭНДОМЕТРИОИДНОЙ БОЛЕЗНИ

3.1.4. Акушерство и гинекология

3.3.2. Патологическая анатомия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор **Маринкин Игорь Олегович**
доктор биологических наук, профессор **Айдагулова Светлана Владимировна**

Официальные оппоненты:
доктор медицинских наук, доцент **Макаренко Татьяна Александровна**
(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой оперативной гинекологии Института последипломного образования)

доктор медицинских наук, профессор **Климачев Владимир Васильевич**
(Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская клиническая больница № 11», заведующий патологоанатомическим отделением, г. Барнаул)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Томск)

Защита состоится «_____» _____ 2021 г. в «_____» часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.06 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 222-68-35); http://ngmu.ru/dissertation/496)

Автореферат разослан «_____» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета К. Ю. Макаров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Эндометриоидная болезнь – эстроген-зависимое заболевание с прогредиентным ростом гетеротопий эндометрия за пределами полости матки (чаще поражены яичники и другие органы малого таза), что ассоциировано с болевым синдромом (Адамян Л. В. и др., 2016; Bulun S. E. et al., 2019; Maddern J. et al., 2020). Эндометриозом страдают 10–15 % женщин во всем мире, в т. ч. моложе 20 лет. Эндометриоз яичников в 50 % случаев сопряжен с бесплодием (Zondervan K. T. et al., 2018; Moga M. A. et al., 2019).

Для эндометриоидных гетеротопий необходимы не только определенный уровень эстрогенов, но и специфические условия микроокружения, которые во многом определяются протеогликанами внеклеточного матрикса. Молекула протеогликана представлена коровым, или сердцевинным, белком, к которому ковалентно присоединены неветвящиеся углеводные цепи сульфатированных гликозаминогликанов, несущие отрицательный заряд (Karamanos N. K. et al., 2019).

Внимание к роли внеклеточного матрикса и протеогликанов в репродуктивной функции человека неуклонно возрастает (Зиганшина М. М. и др., 201). В экспериментах на мышах с дефицитом или нокаутом по коровым белкам протеогликанов или ферментам их биосинтеза показана роль данных молекул в нарушениях репродуктивной функции, что экстраполируют на патологию человека (Kitaya K. et al., 2012). Гепарансульфат протеогликаны (HSPGs) обеспечивают регуляцию сигнальных процессов, управляющих клеточной пролиферацией, дифференцировкой, миграцией, а также опухолевой трансформацией (Theocharis A. D. et al., 2019). Трансмембранные и перицеллюлярные HSPGs (в частности, синдекан-1 (SDC1), глипикан-1 (GPC1) и перлекан (HSPG2/Perl), участвуют в эмбрионально-морфогенетических, физиологических и патологических процессах благодаря своей способности связывать и модифицировать активность многочисленных факторов роста и цитокинов (Kazanskaya G. M. et al., 2018).

Ферментом биодеградации HSPGs является гепараназа (HPSE), единственная эндогликозидаза у человека, которая укорачивает внеклеточные углеводные цепи HSPGs, что приводит к высвобождению факторов роста, в т. ч. ангиогенных. Недавно показана роль SDC1 в патогенезе эндометриоза, что существенно для прогрессирования таких его потенциальных осложнений, как бесплодие и овариальный рак (Ponandai-Srinivasan S. et al., 2020).

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на достижения современной медицины, нет общей точки зрения о патогенезе эндометриоидной болезни, которая продолжает снижать качество жизни миллионов женщин репродуктивного возраста (Laganà A. S. et al., 2019). Наружный генитальный

эндометриоз (НГЭ) характеризуется некоторыми идентичными опухолевому процессу фундаментальными проявлениями (Becker C. M. et al., 2017; Amalinei C. et al., 2018). Среди них – повышенная пролиферативная активность клеток и «метастазирование», т. е. распространение гетеротопий, что свидетельствует о нарушениях клеточной адгезии и межклеточных контактов. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в большинстве тканей обеспечиваются с помощью определенного спектра биологически активных соединений, среди которых видные роли играют протеогликаны (Суховских А. В., Григорьева Э. В., 2016). Один из них – трансмембранный гепарансульфат SDC1, более известный как CD138, локализуется на плазматических клетках, наличие которых в эндометрии в пролиферативную фазу цикла признано самым надежным маркером хронического эндометрита (Vidyavathi K. et al., 2012).

Несмотря на исследование эндометриоза при помощи полногеномных методов, надежные биомаркеры для неинвазивной диагностики отсутствуют (Hirsch M. et al., 2016; Gupta D. et al., 2016; Klemmt P. A. B. et al., 2018). По-прежнему золотым стандартом диагностики являются лапароскопия с биопсией и гистологическое подтверждение патологического процесса. В концепциях патоморфогенеза эндометриоза яичников отмечена роль воспаления (Klemmt P. A. B. et al., 2018). Скрининговый онкомаркер CA125 привлекает внимание как прогностический показатель тяжести эндометриоза и опухолевой трансформации. Актуален поиск панелей биомаркеров эндометриоза, т. к. надежды на протеомику или геномику не оправдались, и не идентифицированы биомаркеры с достаточной специфичностью и чувствительностью (Anastasiu C. V. et al., 2020).

Цель исследования. Провести клинико-патоморфологические корреляции между проявлениями болевого синдрома при прогрессировании наружного генитального эндометриоза и особенностями экспрессии гепарансульфатов и фермента их биодеградации гепараназы в эу- и гетеротопическом эндометрии.

Задачи исследования

1. Проанализировать проявления болевого синдрома у пациенток с наружным генитальным эндометриозом I–III стадий в порядке частоты встречаемости и интенсивности болевых ощущений по визуальной аналоговой шкале.

2. Провести анализ характера болевого синдрома в зависимости от анатомической локализации очагов эндометриоза и стадии наружного генитального эндометриоза.

3. Изучить экспрессию синдекана-1 и гепараназы в выстилке капсулы эндометрием яичников у женщин репродуктивного возраста в пролиферативную фазу цикла с оценкой степени выраженности воспалительной инфильтрации и корреляции

с болевым синдромом.

4. В эутопическом и гетеротопическом эндометрии сопоставить экспрессию гепарансульфатов и гепараназы по данным полимеразной цепной реакции и иммуногистохимической реакции.

5. Провести корреляционный анализ содержания СА-125 в крови и экспрессии гепараназы на уровне мРНК в эндометриомах яичников.

Научная новизна. Впервые при помощи статистических моделей проанализирована прогностическая значимость отдельных проявлений болевого синдрома (диспареуния, хроническая тазовая боль) в диагностике эндометриоидной болезни. Хроническая тазовая боль является одним из ведущих проявлений болевого синдрома при НГЭ II и III стадий: статистически ее наличие увеличивает вероятность двусторонней эндометриомы яичников в 5,58 раза (95 % ДИ 0,22–7,14), очагового эндометриоза яичников – в 6,05 раза (95 % ДИ 0,45–9,95), эндометриоза широких маточных связок – в 11,82 раза (95 % ДИ 2,33–19,12), эндометриоза брюшины малого таза – в 102,51 раза (95 % ДИ 7,19–22,09). Зависимость между субъективной оценкой болевых ощущений по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), локализацией и распространенностью очагов эндометриоза статистически доказана для диспареунии при эндометриозе брюшины малого таза и крестцово-маточных связок, для хронических тазовых болей при очаговых поражениях брюшины мочевого пузыря, яичников и при ретроцервикальном эндометриозе. Специфичных для определенной стадии НГЭ болевых симптомов и их комбинаций не выявлено.

Уровень экспрессии коровых белков в ткани эндометриоидных гетеротопий (по данным полимеразной цепной реакции) выявил повышенную в 2 раза общую транскрипционную активность кодирующих генов перлекана и гепараназы по сравнению с эутопическим эндометрием ($p < 0,05$). Впервые установлено, что относительная экспрессия HPSE в гетеротопиях положительно коррелирует с содержанием онкомаркера CA125 в сыворотке крови.

По данным иммуногистохимического исследования эндометриоидных гетеротопий у пациенток репродуктивного возраста, выраженная экспрессия гепараназы в эпителии овариальных эндометриом ассоциирована с воспалительно-клеточной инфильтрацией и наличием болевого синдрома; при этом экспрессия синдекана-1 (маркера хронического эндометрита) в эпителии эндометриом не взаимосвязана с экспрессией гепараназы и с болевым синдромом.

Впервые в эндометриоидных гетеротопиях, по сравнению с эутопическим эндометрием тех же пациенток в пролиферативной фазе цикла, выявлено статистически значимое увеличение содержания суммарных гепарансульфатов, трех представителей данного семейства протеогликанов и фермента биодеградации их

углеводных цепей. Повышение содержания гепарансульфатов в эндометриоидных гетеротопиях в пролиферативную фазу цикла свидетельствует о важной роли гликозилированных молекул в патогенезе эндометриоза яичников.

Теоретическая и практическая значимость работы. По мере увеличения стадии наружного генитального эндометриоза статистически доказано прогрессирование болевого синдрома с присоединением новой болевой симптоматики и нарастанием степени интенсивности болевых ощущений. Диспареуния (наличие и интенсивность) является значимой независимой переменной для диагностики эндометриоза брюшины малого таза и крестцово-маточных связок. Это имеет значение при выработке тактики обследования пациенток с болью и при планировании оперативного вмешательства.

Наличие болевого синдрома положительно коррелировало с экспрессией гепараназы в ядрах эпителия эндометрием и с воспалительно-клеточной инфильтрацией. Содержание СА125 в сыворотке крови положительно коррелировало с экспрессией гепараназы в очагах эндометриоза. Выявлены черты сходства и различий гетеротопий от опухолей эндометрия: повышение в 2 раза содержания мРНК гепараназы в гетеротопиях аналогично опухолевой патологии; однако отсутствие отрицательной корреляции между экспрессией синдекана-1 и гепараназы в эпителии гетеротопий яичников свидетельствует в пользу принципиального отличия гетеротопий от опухолевых пролифератов. Высокая экспрессия гепараназы в эндометриоидных гетеротопиях может способствовать прогрессированию наружного генитального эндометриоза. Изучение особенностей межклеточного матрикса соединительной ткани и эпителия эндометрия женщин с эндометриоидной болезнью, в т. ч. с бесплодием, позволяет выработать дифференциально-диагностические критерии выбора тактики ведения пациенток.

Методология и методы исследования. Работа построена на комплексном анализе данных, полученных в ходе научного исследования с применением специальных методов, основанных на современных принципах клинической и патоморфологической оценки со статистической обработкой (визуальная аналоговая шкала болевых ощущений, комплексное патоморфологическое исследование операционного материала: световая микроскопия, молекулярно-биологическое и иммуногистохимическое исследование, морфометрия).

Объект исследования – пациентки с наружным генитальным эндометриозом, образцы эндометриоидных кист, резецированные при плановом оперативном лечении. Предмет исследования – проявления болевого синдрома при наружном генитальном эндометриозе; экспрессия гепарансульфатов и гепараназы в гетеротопиях яичников и в эуэндометрии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Зависимость между субъективной оценкой интенсивности болевых ощущений по визуальной аналоговой шкале, локализацией и распространенностью очагов эндометриоза статистически доказана для диспареунии при эндометриозе брюшины малого таза и крестцово-маточных связок, для хронических тазовых болей при поражениях брюшины мочевого пузыря, яичников и при ретроцервикальном эндометриозе.

2. Воспалительно-клеточная инфильтрация и интенсивность болевого синдрома ассоциированы со степенью выраженности экспрессии гепараназы в эпителии эндометриоидных кист яичников, при этом для синдекана-1 зависимость с экспрессией гепараназы и с болевым синдромом отсутствует.

3. В ткани эндометриоидных гетеротопий по сравнению с эутопическим эндометрием общая транскрипционная активность генов, кодирующих коровые белки гепарансульфатов и фермента биодеградации их углеводных цепей гепараназы, повышена для перлекана и гепараназы.

Степень достоверности и обоснованности результатов. Все использованные методические приемы (анализ проявлений болевого синдрома, диагностика локализации эндометриоидных очагов, изучение транскрипционной активности кодирующих генов гепарансульфат протеогликанов и гепараназы, иммуногистохимическое исследование эндометриоидных гетеротопий и эутопического эндометрия, морфометрический анализ) и способы статистической обработки соответствуют поставленным цели и задачам и позволяют получить достоверные результаты. Диссертация выполнена на достаточном клиническом (92 пациентки с эндометриозом и 90 женщин контрольной группы), гистологическом и молекулярно-биологическом материале. Сформулированные научные положения, выводы и практические рекомендации основаны на результатах собственных исследований, проанализированы с помощью адекватной статистической обработки и соответствуют поставленным цели и задачам.

Апробация результатов диссертации. Основные положения диссертации доложены на: Всероссийской конференции, посвященной памяти проф. О. К. Хмельницкого «Современные подходы в клинико-морфологической диагностике и лечении заболеваний человека» (Санкт-Петербург, 2013); 14-м Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2013); 5-й Международной научной конференции SCIENCE4HEALTH «Клинические и теоретические аспекты современной медицины» (Москва, 2013); 52-й Международной научной студенческой конференции «МНСК-2014. Медицина» (Новосибирск, 2014); 25th European Students' Conference «Rethinking Medical Research» (Берлин, Германия, 2014); Semmelweis

International Students Conference (Будапешт, Венгрия, 2014); 21-м Всемирном конгрессе «Достижения в онкологии» и 19-м Международном симпозиуме по молекулярной медицине (Афины, Греция, 2016); Международной научной конференции «7 озер протеогликанов» (Варезе, Италия, 2017); 3-м Национальном конгрессе «Онкология репродуктивных органов» (Москва, 2018); научно-практических конференциях «Авиценна» (Новосибирск, 2014; 2019); Международном онлайн-конгрессе «Эндометриоз 2021» (Рим, Италия, 2021).

Диссертационная работа апробирована на совместном заседании проблемных комиссий «Охрана здоровья женщины» и «Морфологические основы компенсаторно-приспособительных реакций» Новосибирского государственного медицинского университета (Новосибирск, 2021).

Диссертация выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы Новосибирского государственного медицинского университета по теме «Молекулярно-биологические маркеры прогрессирования атрофических и пролиферативных процессов в органах женской репродуктивной сферы, подходы к диагностике, лечению и реабилитации», № гос. регистрации АААА-А15-115120910166-7 на 2015–2020 г. и Государственным заданием Министерства здравоохранения РФ на осуществление научных исследований и разработок на 2018–2020 г. № 056-00141-18-00 «Роль биодеградации гепарансульфат протеогликанов внеклеточного матрикса в патогенезе опухолей яичников».

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты работы внедрены в учебный процесс на кафедре акушерства и гинекологии, на кафедре патологической анатомии Новосибирского государственного медицинского университета по темам «Генитальный эндометриоз», «Доброкачественные опухоли яичников» и в лечебную практику Клинического центра охраны здоровья семьи и репродукции (г. Новосибирск).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 6 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 5 статей в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста; состоит из введения, обзора литературы, главы с изложением материала и методов исследования, главы с результатами собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного

материала. Список литературы представлен 222 источниками, из которых 198 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 20 таблиц и 23 рисунков.

Личное участие автора. Обзор литературы, лечение пациенток, сбор клинических данных, иммуногистохимическое исследование и анализ изображения проведены автором самостоятельно. Полимеразная цепная реакция по изучению экспрессии коровых белков гепарансульфатов и гепараназы выполнена совместно с сотрудниками лаборатории гликобиологии (зав. лаб. – д-р биол. наук Э. В . Григорьева) ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск). Планирование и дизайн работы, интерпретация полученных данных проведены совместно с научными руководителями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика пациенток и деление на группы. Проведено клиническое (оценка болевого синдрома), молекулярно-биологическое и иммуногистохимическое исследование клинического материала – 92 пациентки в возрасте от 29,88 до 30,70 года (30,16 (2,79) года), прооперированных по поводу НГЭ.

Пациентки разделены на три репрезентативные по возрасту группы в зависимости от стадии НГЭ, согласно классификации американского общества по проблемам фертильности и клинических рекомендаций по эндометриозу российского общества акушеров-гинекологов: 1-я группа – 12 пациенток с НГЭ I стадии (13 %), 2-я – 60 пациенток с НГЭ II стадии (65 %), 3-я группа – 20 пациенток с НГЭ III стадии (22 %). Локализацию эндометриоидных очагов определяли при лапароскопии. Показатели овариального резерва ФСГ и АМГ были в пределах 7,33 (1,2) мМЕ/мл и 3,79 (1,61) нг/мл соответственно. Исследование содержания в крови маркера СА125 проведено с помощью набора реагентов ARCHITECT CA125 II Reagent Kit («Abbott», США).

Критерии включения в исследование: показания к оперативному лечению в соответствии с клиническими рекомендациями (Адамян Л. В. и др., 2006), в т. ч. бесплодие, болевой синдром и наличие эндометриоидных кист яичников диаметром более 3 см, а также гистологически верифицированный НГЭ и информированное согласие пациентки. Критерии исключения: беременность, иммунодефицитные состояния, декомпенсированная экстрагенитальная патология, наличие опухолей.

Для изучения болевого синдрома с помощью визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) сформирована контрольная группа – 90 пациенток аналогичного возраста (29,70 (2,49) года), которым проводилась лапароскопия в плане подготовки к вспомогательным репродуктивным технологиям.

Лечение и манипуляции с пациентками проводили с их письменного

информированного согласия в соответствии с законодательством РФ и этическими принципами проведения медицинских исследований, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Исследование одобрено Комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 63 от 27.03.2014).

Молекулярно-биологическое исследование содержания гепарансульфатов. С помощью полуколичественной ОТ-ПЦР в реальном времени исследовано содержание трех представителей семейства HSPGs и фермента биодеградации их углеводных цепей HPSE в операционном материале 11 пациенток в возрасте 30,7 (6,3) лет с эндометриоидными кистами яичников III стадии в пролиферативную фазу цикла. От каждого образца резецированных кист и эуэндометрия отсекали фрагменты объемом 0,3 $см^3$ и хранили при –20 °С в растворе RNALater (ThermoFisher Scientific). Оставшиеся фрагменты нативной ткани фиксировали в забуференном формалине и заливали в гистомикс.

Выделение РНК из образцов проводили с помощью QIAzol Lysis Reagent (Qiagen, США) с доочисткой на колонках RNeasy Plus Mini (Qiagen, США) согласно инструкции производителя. Для синтеза кДНК использовали 0,2 мкг РНК и RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit (ThermoFisher Scientific, США). Экспрессию генов SDC1, GPC1, HSPG2 и HPSE анализировали в трех повторах с использованием БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (Биолабмикс, РФ) и амплификатора CFX-96 Touch (Bio-Rad, США). Экспрессию оценивали по методу $2^{\Delta Ct}$, в качестве гена сравнения использовали глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу (GAPDH) (Таблица 1).

Таблица 1 – Праймеры (ThermoFisher Scientific) для молекулярно-биологического исследования эндометриоидных гетеротопий и эуэндометрия

GeneBank	Символ	Описание	Последовательности нуклеотидов
NM_002997	SDC1	Синдекан-1	F 5′-CTCTGGCTCTGGCTGTGC-3′ R 5′-AGCCATCTTGATCTTCAGGG-3′
NM_002081	GPC1	Глипикан-1	F 5′-AGATCTACGGAGCCAAGGG-3′ R 5′-TGTAGCCCTGGGGACAGAT-3′
NM_001291860	HSPG2	Перлекан	F 5′-TCGGCCATGAGTCCTTCTAC-3′ R 5′-CCTGCTGTGTAGGAGAGGGT-3′
NM_006665.5	HPSE	Гепараназа	F 5′-TTCCTGTCCGTCACCATTG-3′ R 5′-TACGCAGGAGACAAGCCTCT-3′
NM_002046	GAPDH	Глицеральдегид-3-фосфатдегид-рогеназа	F 5′-AAGGTGAAGGTCGGAGTCAA-3′ R 5′-AATGAAGGGGTCATTGATGG-3′

Для ИГХ-исследования парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм депарафинировали в сменах ксилола и этилового спирта. Антигены демаскировали в цитратном буфере. Для визуализации суммарных HSPGs в качестве первичных антител использовали мышиные антитела к углеводным цепям гепарансульфата млекопитающих («Millipore», cat. № MAB2040, разведение 1 : 100). Иммуногистохимическое окрашивание проводили с использованием мышиных антител к коровому белку SDC1 («ThermoScientific», cat. № MS-1793-RQ, готовые к использованию); мышиных антител к HSPG2/перлекану человека («Abcam», cat. № ab23418, 1 : 100); кроличьих антител к GPC1 человека («Abcam», cat. № ab226855, 1 : 100) и кроличьих антител к HPSE («Abcam», cat. № ab85543, 1 : 100).

Продукты ИГХ-реакции на SDC1 визуализировали с помощью набора UltraVision Quanto Detection System HRP (ThermoScientific), для остальных HSPGs и HPSE – с помощью набора «Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC kit («Abcam», cat. № ab64264)» с диаминобензидином (DAB); ядра клеток докрашивали гематоксилином. Продукты ИГХ-реакции изучали с помощью микроскопа Axio Scope.A1 с фотокамерой AxioCam MRc5 (C. Zeiss) при увеличении 400. Сравнение экспрессии SDC1 и HPSE в эпителии эндометрием проводили полуколичественно (1–3 баллов); для всех HSPGs – по площади с помощью автоматического анализа изображения (C. Zeiss).

Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью пакетов прикладных программ OfficeExcel 2010 (Microsoft, США), STATISTICA 10 для Windows (StatSoft, США). Все количественные показатели представлены как M (SD); качественные данные выражали через частоты встречаемости в %. Статистическую значимость различий между частотными показателями групп с ожидаемыми частотами 5 и более оценивали с использованием критерия хи-квадрат с учетом поправки Йетса. При наличии значений ожидаемых частот 5 и менее применяли точный тест Фишера.

Распределение значений количественных показателей проверяли на соответствие нормальному распределению по методу Шапиро – Уилка. Для выявления статистически значимых различий между группами по количественным показателям с нормальным распределением признака использовали дисперсионный анализ: критерий Стьюдента для несвязанных выборок в случае сравнения независимых групп и парный t-тест для зависимых выборок. При отсутствии нормального распределения значений признака статистическую значимость различий между независимыми группами оценивали с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни, а между зависимыми группами – с помощью критерия Вилкоксона. Для анализа связи между значениями оценки болевого синдрома (баллы

ВАШ) и топографической локализацией гетеротопий использовали простой логистический регрессионный анализ. Для анализа связи между наличием/отсутствием проявлений боли и анатомической локализацией очагов эндометриоза использовали множественную логистическую регрессию.

Статистическую обработку данных автоматического анализа изображения проводили в среде статистических расчетов «R» с использованием пакета R-Studio (RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL http://www.rstudio.com/). Критическое значение уровня статистической значимости нулевой гипотезы принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ проявлений болевого синдрома при наружном генитальном эндометриозе I–III стадий. Средний возраст пациенток с НГЭ в 1–3-й группах варьировал от 29,88 до 30,70 года (30,16 (2,79) года), в контрольной группе – 29,70 (2,49) года (Таблица 2).

Таблица 2 – Характеристика болевого синдрома у пациенток

Показатели	Наружный генитальный эндометриоз						Контроль n = 90	
	1-я группа n = 12		2-я группа n = 60		3-я группа n = 20			
	n	%	n	%	n	%	n	%
Возраст M (SD) Min–Max	30,66 (4,07) 25–29		29,88 (4,22) 20–42		30,70 (6,27) 22–44		29,70 (4,98) 18–44	
Количество пациенток с болью	6	50,0	41	68,3	20	100,0	68	75,5
Дисменорея	1	8,3	24	40,0	13	65,0	3	3,3
Диспареуния	2	16,6	19	31,6	14	70,0	11	12,2
Хроническая тазовая боль	3	25,0	11	18,3	10	50,0	54	60,0
Примечание. Статистически значимые различия между группами по возрасту отсутствуют (p = 0,78)								

По мере увеличения стадии НГЭ болевой синдром нарастал: в 1-й группе (НГЭ I стадии) манифестировал в 50 % случаев, во 2-й – в 68,3 %, в 3-й – в 100 % случаев. По мере прогрессирования стадии отмечен статистически значимый рост количества пациенток с диспареунией (16,6 – 31,6 – 70,0) % и дисменореей (8,3 – 40,0 – 65,0) % (см. Таблицу 2). При анализе хронической тазовой боли между 3-й и контрольной группами статистически значимые различия не выявлены, что позволяет говорить о сходстве клинической картины за счет поражения брюшины при НГЭ и при рубцово-спаечном процессе (см. Таблицу 2).

В порядке частоты встречаемости наиболее частыми жалобами при НГЭ были хронические боли внизу живота и пояснице, усиливающиеся в период менструации, при этом в зависимости от стадии НГЭ выявлен статистически значимый рост оценки интенсивности болевых ощущений (2,33 (1,44) → 3,45 (0,93) → 4,9 (1,37). В контрольной группе преобладала не связанная с менструальным циклом и половой близостью хроническая тазовая боль, и также отсутствовала разница между 3-й и контрольной группами. Диспареуния как компонент болевого синдрома занимала 2-е место по частоте встречаемости, при сравнении 1-й и 2-й групп пациенток отмечено статистически значимое возрастание во 2-й группе как частоты встречаемости, так и более чем двукратный рост показателей интенсивности болевых ощущений по ВАШ; интенсивность боли во 2-й и 3-й группах была сопоставимой. По мере нарастания стадии выявлено статистически значимое нарастание дисменореи (2 → 3,04 (0,85) → 4,23 (1,55) (Таблица 3).

Таблица 3 – Проявления болевого синдрома в порядке частоты встречаемости и интенсивности болевых ощущений по визуальной аналоговой шкале (ВАШ)

Показатели	Наружный генитальный эндометриоз			Контроль n = 90
	1-я группа, n = 12	2-я группа, n = 60	3-я группа, n = 20	
Хроническая тазовая боль				
N	3	11	10	54
M (SD)	2,33 (2,31)	3,45 (0,93)	4,9 (1,37)	4,8 (2,01)
Min–Max	1–5	2–5	3–7	3–7
Me (Q1; Q3)	1 (1; 4)	4 (3; 4)	5 (4; 6)	5 (4; 6)
Диспареуния				
N	2	19	14	11
M (SD)	2,50 (0,71)	4,11 (1,14)	4,43 (1,56)	1,44 (1,01)
Min–Max	2–3	3–7	3–8	1–3
Me (Q1; Q3)	2,5 (2; 3)	4 (3; 5)	4 (3; 6)	1 (2; 3)
Дисменорея				
N	1	24	13	3
M (SD)	2	3,04 (0,86)	4,23 (1,01)	3,04 (1,58)
Min–Max	2–2	2–4	3–6	2–4
Me (Q1; Q3)	2 (2; 2)	3 (2; 4)	4 (3; 5)	3 (2; 4)

В 1-й группе преобладали пациентки с моносимптомными жалобами (41,6 %), во 2-й и 3-й группах – статистически значимый рост пациенток с 2 проявлениями болевого синдрома (8,3 – 36,6 – 55,0) %; во 2-й и 3-й группах у 15 % пациенток

отмечались все три проявления. По комбинации проявлений болевого синдрома 1-я группа не отличалась от контрольной.

С целью выделения значимости отдельного болевого синдрома для анатомической локализации гетеротопий была создана множественная логистическая регрессионная модель. Переменной отклика являлось наличие или отсутствие очага эндометриоза конкретной локализации. В качестве факторов риска (предикторных переменных) использованы данные о наличии или отсутствии болевой симптоматики (хроническая тазовая боль, диспареуния, дисменорея).

Наличие дисменореи увеличивало вероятность рецидивирующей эндометриомы яичника в 25,58 раза (95 % ДИ 1,76–44,81), двусторонней эндометриомы – в 43,82 раза (95 % ДИ 1,54–56,17, очагового эндометриоза яичников – в 9,12 раза (95 % ДИ 1,09–13,01), эндометриоза широких маточных связок – в 5,31 раза (95 % ДИ 0,91–7,81), эндометриоза брюшины малого таза – в 28,5 раза (95 % ДИ 4,10–35,16).

Наличие диспареунии увеличивало вероятность двусторонней эндометриомы яичников в 3,60 раза (95 % ДИ 0,03–4,54), очагового эндометриоза яичников – в 4,26 раза (95 % ДИ 0,17–6,11), эндометриоза широких маточных связок – в 49,90 раза (95 % ДИ 2,63–56,02), эндометриоза брюшины малого таза – в 106,7 раза (95 % ДИ 17,17–232,01).

Наличие хронических тазовых болей увеличивало вероятность двусторонней эндометриомы яичников в 5,58 раза (95 % ДИ 0,22–7,14), очагового эндометриоза яичников – в 6,05 раза (95 % ДИ 0,45–9,95), эндометриоза широких маточных связок – в 11,82 раза (95 % ДИ 2,33–19,12), эндометриоза брюшины малого таза – в 102,51 раза (95 % ДИ 7,19–22,09).

Далее изучали зависимости между субъективной оценкой болевых ощущений по ВАШ и локализацией эндометриоидных гетеротопий, используя простой логистический регрессионный анализ. Изучение зависимости между оценкой по ВАШ и локализацией гетеротопий рекомендовано использовать в диагностике тяжести и определении стадийности заболевания (Morotti M. et al., 2017).

Отвечали на вопрос, существует ли взаимосвязь между абсолютным значением болевых ощущений по ВАШ для определенной локализации гетеротопий. Таким образом, предикторной переменной выступал отдельный болевой синдром, бинарной категориальной переменной – наличие гетеротопии конкретной анатомической локализации. При I стадии НГЭ не было получено данных о взаимосвязи между оценкой выраженности болевого синдрома по ВАШ и локализацией очагов НГЭ. При II и III стадиях выявлены некоторые статистически значимые зависимости между выраженностью боли и топографией гетеротопий. Во 2-й группе выявлены

взаимосвязи: при увеличении оценки диспареунии на 1 балл по ВАШ вероятность эндометриоза брюшины малого таза увеличивалась в 16,84 раза (95 % ДИ 7,51–20,83, p = 0,01), вероятность эндометриоза крестцово-маточных связок нарастала в 13,15 раза (95 % ДИ 3,01–17,26, p = 0,01); при увеличении субъективной оценки ХТБ на 1 балл по ВАШ вероятность очагового эндометриоза яичников увеличивалась в 24,17 раза (95 % ДИ 1,3–45,8, p = 0,001), вероятность эндометриоза брюшины мочевого пузыря нарастала в 15,24 раза (95 % ДИ 4,51–21,9, p = 0,005). В 3-й группе выявлены взаимосвязи: при увеличении оценки диспареунии на 1 балл по ВАШ вероятность эндометриоза крестцово-маточных связок увеличивалась в 7,04 раза (95 % ДИ 3,4–11,2, p = 0,04), при увеличении субъективной оценки ХТБ на 1 балл по ВАШ вероятность эндометриоза брюшины малого таза увеличивалась в 15,83 раза (95 % ДИ 7,6–16,4, p = 0,02) и вероятность ретроцервикального эндометриоза нарастала в 11,78 раз (95 % ДИ 2,42–15,83, p = 0,008).

При патоморфологическом исследовании во всех группах преобладал эндометриоз крестцово-маточных связок (83,3→50,0→80,0 %) и эндометриоз брюшины малого таза (75,0→65,0→85,0 %); во 2-й и 3-й группах диагностирована эндометриома яичника (96,6 % и 95,0 %), являющаяся классифицирующим признаком.

В целом, нами подтверждено, что болевой синдром при НГЭ прогрессирует по мере увеличения стадии заболевания с присоединением новой болевой симптоматики к уже существующей, а также нарастанием оцениваемой по ВАШ степени интенсивности болевых ощущений. Специфичных для конкретной стадии НГЭ проявлений болевого синдрома и их комбинаций не выявлено.

Хроническая тазовая боль является одним из ведущих проявлений болевого синдрома при НГЭ II и III стадий. Зависимость между субъективной оценкой болевых ощущений по ВАШ, локализацией и распространенностью очагов эндометриоза носит эпизодический характер и статистически доказана для диспареунии при эндометриозе брюшины малого таза и крестцово-маточных связок, для хронических тазовых болей при очаговых поражениях брюшины мочевого пузыря, яичников и при ретроцервикальном эндометриозе.

Экспрессия гепараназы и синдекана-1 в эпителии эндометриоидных кист яичников детально изучена при III стадии НГЭ. В структуре жалоб всех 20 пациенток преобладал болевой синдром 3–5 баллов по ВАШ – у 13 (65 %) женщин, у остальных 5 пациенток течение заболевания было почти бессимптомным (с оценкой боли в 1–2 балла по ВАШ). По данным ИГХ исследования эндометрием яичников, SDC1 локализовался на базальных плазмолеммах эпителиоцитов и слабо экспрессировался в их ядрах. Однако повышение CA125 коррелировало даже с минимальной экспрессией SDC1 в эпителии (rs = 0,646; p = 0,0037). В цитогенной

строме экспрессия SDC1 приурочена к межклеточному матриксу, обратно коррелируя с экспрессией в цитоплазме эпителиоцитов (rs = –0,671; p = 0,0023), а также выявлена в плазматических клетках.

Высокая экспрессия HPSE в ядрах клеток эпителия эндометрием прямо коррелировала с наличием субэпителиальной воспалительной инфильтрации (rs = 0,949; p < 0,0001) и с более интенсивной болью по ВАШ (rs = 0,902; p < 0,0001), однако отрицательно коррелировала с экспрессией HPSE в цитогенной строме (rs = –0,949; p < 0,0001) и с ее фиброзом (rs = –1,0; p < 0,0001). Наличие субэпителиальной воспалительной инфильтрации положительно коррелировало с болевым синдромом в 3–5 баллов по ВАШ (rs = 0,887; p < 0,0001) и отрицательно коррелировало с фиброзом (rs = –0,949; p < 0,0001), а также с экспрессией HPSE в цитогенной строме (rs = –1,0; p < 0,0001).

В целом, тазовая боль в 3–5 баллов по ВАШ при эндометриомах яичников III стадии положительно коррелировала (p < 0,0001) с экспрессией HPSE в ядрах эпителия (rs = 0,902) и воспалительной инфильтрацией (rs = 0,887) и отрицательно коррелировала с проявлениями фиброза цитогенной стромы (rs = –0,902).

С помощью теста Манна – Уитни сравнили показатели экспрессии SDC1 и HPSE в образцах эндометрием в зависимости от наличия / отсутствия субэпителиальной воспалительной инфильтрации. Для SDC1 значимые различия между группами не выявлены. При этом между группами выявлены различия, связанные с экспрессией HPSE в ядрах (p = 0,0001) и цитоплазме (p = 0,0354) эпителия и цитогенной строме (p = 0,0002) эндометрием яичников, а также с болевым синдромом интенсивностью 3–5 баллов по ВАШ (p = 0,0003) и отсутствием фиброза цитогенной стромы (p = 0,0001).

Также проанализированы различия при сравнении подгрупп, выделенных по наличию / отсутствию фиброза цитогенной стромы. Выявлены статистически значимые различия по наличию воспалительной инфильтрации (p = 0,0002), болевому синдрому (p = 0,0003) и более высокой экспрессии HPSE в ядрах (p = 0,0001) и цитоплазме (p = 0,0354) эпителия эндометрием. При этом наличие фиброза сопровождалось более высокой экспрессией HPSE стромальными клетками кист (p = 0,0002), что свидетельствует о высокой вероятности нарушения межклеточных контактов, высвобождения факторов роста и активации миграции клеток соединительной ткани, т. е. сохранении потенциала роста. Как правило, в опухолях содержание SDC1 и фермента HPSE обратно пропорционально, однако существует синхронная функциональная активность двух молекул в клетках – т. н. ось «синдекан – гепараназа» (Ramani V. C. et al., 2013).

В целом, по данным ИГХ-исследования выстилки овариальных эндометрием у

пациенток репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами III стадии, выраженная экспрессия HPSE в эпителии ассоциирована с субэпителиальной воспалительно-клеточной инфильтрацией и наличием боли в 3–5 баллов по ВАШ. Экспрессия SDC1 в эпителии эндометрием снижена, без корреляции с экспрессией HPSE.

Экспрессия гепарансульфатов в операционном материале эндометриоидных кист яичников и эуэндометрии. По данным ОТ-ПЦР, в гетеротопиях относительная экспрессия коровых белков трансмембранных (SDC1 и GPC1) и локализующегося в эпителиальных базальных мембранах HSPG2/перлекана – характеризовалась статистически значимо более высокими показателями только для HSPG2/перлекана (p = 0,047). Для двух других представителей семейства HSPGs значимые изменения не выявлены (Рисунок 1).

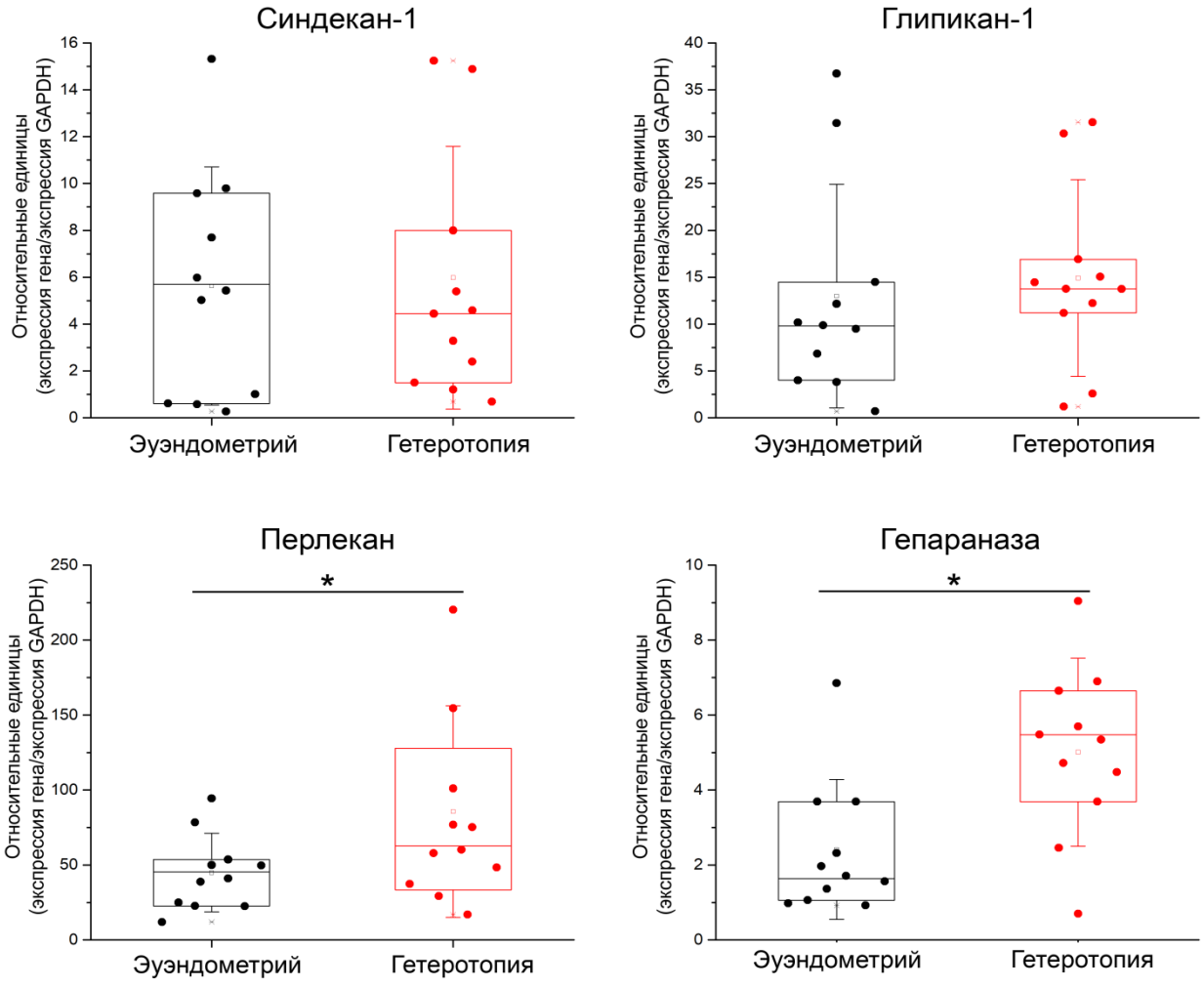

Рисунок 1 – Относительная экспрессия коровых белков гепарансульфат протеогликанов и гепараназы в эуэндометрии и гетеротопиях при эндометриозе яичников III стадии в пролиферативную фазу цикла. ОТ-ПЦР в реальном времени, в 3-х повторах, относительно GAPDH. Результаты представлены в виде Me (Q1; Q3) и M (SD). * – $p < 0,05$

Наряду с HSPG2/перлеканом, в образцах гетеротопий, по сравнению с эуэндометрием, в 2 раза (p = 0,001) повышена экспрессия HPSE – фермента биодеградации углеводных цепей всех HSPGs. Ранее показано, что ее экспрессия и на уровне мРНК, и на уровне белка значительно повышена в опухолях с агрессивным течением и в тканях с активной пролиферацией (Karamanos N. K. et al., 2019).

Возможная взаимосвязь между экспрессией коровых белков HSPGs с уровнем CA125 не была ранее изучена. Нами проанализированы результаты ПЦР-анализа гетеротопий M (SD) = 5,56 (2,59) (от 0,70 до 9,04) и уровня скринингового маркера CA125 в сыворотке крови у пациенток с НГЭ III стадии (41,64 (23,05), который варьировал в пределах от 10 до 79 ед. Установлена положительная корреляция между относительной экспрессией HPSE в патологических очагах и содержанием скринингового онкомаркера (коэффициент корреляции Спирмена rs = 0,78, ДИ 95 %: 0,168; 1, p = 0,004) (рисунок 2), что требует дальнейших исследований.

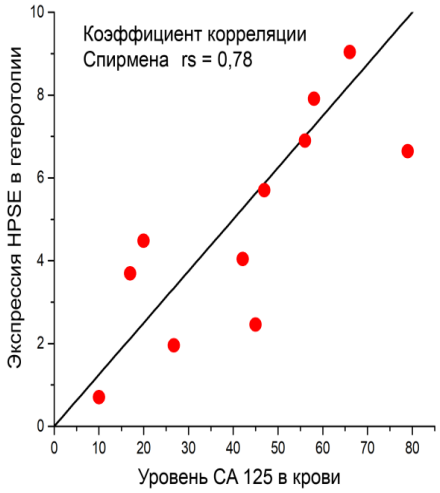

Рисунок 2 – Корреляционный анализ содержания CA125 в крови и экспрессии гепараназы (HPSE) на уровне мРНК в операционном материале эндометриоидных гетеротопий у пациенток с эндометриозом яичников III стадии в пролиферативную фазу цикла. p = 0,004

При сравнительном светооптическом исследовании биоптатов эндометрия и операционного материала пациенток в пролиферативную фазу цикла выявлен гетерогенный характер экспрессии суммарных HSPGs в эпителии и строме. В биоптатах HSPGs локализовались внутриклеточно, на плазмолеммах и в межклеточном матриксе; в эпителии желез реакция была очень гетерогенной, строма эндометрия характеризовалась менее интенсивной реакцией. В гетеротопиях суммарные HSPGs локализовались также неравномерно, в основном в эпителии и межклеточном матриксе цитогенной стромы. Светооптически экспрессия суммарных HSPGs в гетеротопиях менее интенсивна по сравнению с эуэндометрием, однако строма кист превосходила эуэндометрий, и площадь продуктов ИГХ-реакции статистически значимо (p = 0,0208) повышена в патологических очагах (Рисунок 3).

Далее был изучен вклад индивидуальных представителей семейства HSPGs в их суммарную экспрессию с помощью антител к коровым белкам. В гетеротопиях

экспрессия SDC1 была минимальной. Реакция на HSPG2 была наибольшей в эпителии при очень слабой реакции в цитогенной строме и фиброзной части капсулы эндометрием. Однако реакция на GPC1 была выраженной в строме и отсутствовала в эпителии. В целом, статистически значимое превышение площади продуктов реакции выявлено в операционном материале по сравнению с эуэндометрием тех же пациенток для всех коровых белков HSPGs, однако наибольшая площадь продуктов реакции была установлена для GPC1 (см. Рисунок 3), содержание которого повышено в опухолях яичников (Davies E. J. et al., 2004).

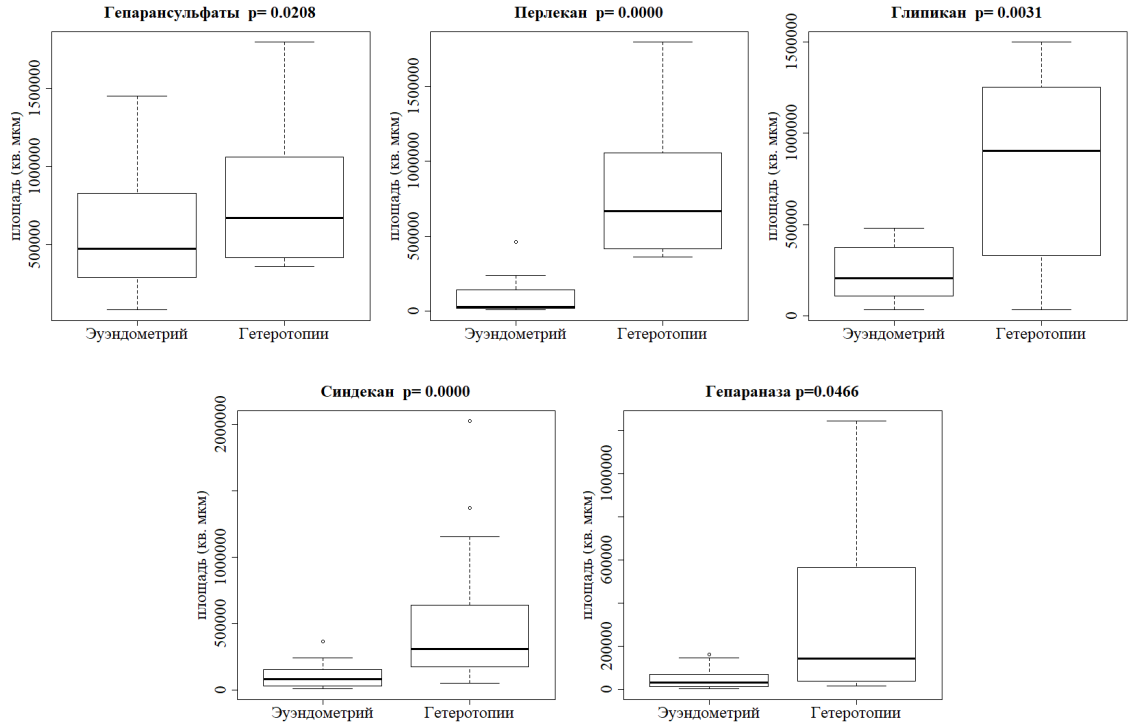

Рисунок 3 – Площадь экспрессии гепарансульфата, коровых белков HSPGs и гепараназы в эутопическом эндометрии и гетеротопиях у пациенток с эндометриозом яичников III стадии в пролиферативную фазу цикла.

HPSE – фермент биодеградации углеводных цепей HSPGs – в эутопическом эндометрии выявлен в одиночных поверхностных эпителиоцитах и мелких очагах перигландулярной стромы, что подтверждает результаты ИГХ-исследования (Xu X. et al., 2007) о том, что при НГЭ экспрессия HPSE в эуэндометрии в первую фазу цикла минимальна и нарастает к концу секреторной фазы цикла, способствуя десквамации.

Следует отметить, что экспрессия HSPG2/Perl была статистически значимо повышена по данным двух методов – ОТ-ПЦР и ИГХ. HSPG2/Perl может действовать как мощный проангиогенный фактор, либо непосредственно представляя фактор роста эндотелия сосудов (VEGFA) их рецепторам, либо косвенно – после частичного расщепления HPSE углеводных цепей HSPGs. Оба механизма могут инициировать

усиление проницаемости сосудов (Iozzo R. V., Schaefer L., 2015). При этом экспрессия HPSE в гетеротопиях была повышенной. По данным Xu X. et al. (2007), HPSE высоко экспрессирована в гетеротопиях независимо от стадии цикла.

В целом, результаты исследования свидетельствуют о вовлеченности в патоморфогенез НГЭ внеклеточных гликозилированных молекул семейства HSPGs. Эндогликозидаза HPSE, расщепляя углеводные цепи HSPGs, модифицирует внеклеточный матрикс, что может способствовать распространению эндометриоидных гетеротопий и прогрессированию НГЭ.

ВЫВОДЫ

1. Болевой синдром при наружном генитальном эндометриозе I–III стадии прогрессирует по мере увеличения стадии заболевания с присоединением новой болевой симптоматики, а также нарастанием оцениваемой по визуальной аналоговой шкале степени интенсивности болевых ощущений. Хроническая тазовая боль является одним из ведущих проявлений болевого синдрома при наружном генитальном эндометриозе II и III стадии. Прогностически наличие и интенсивность диспареунии являются статистически значимыми маркерами наличия (распространенности) эндометриоза брюшины малого таза и крестцово-маточных связок. Для конкретной стадии НГЭ специфичных проявлений болевого синдрома и их комбинаций не выявлено.

2. Зависимость между субъективной оценкой болевых ощущений по визуальной аналоговой шкале и локализацией очагов эндометриоза доказана для диспареунии при эндометриозе брюшины малого таза и крестцово-маточных связок ($p = 0{,}001$), а также для хронической тазовой боли при очаговых поражениях брюшины мочевого пузыря ($p < 0{,}001$), яичников ($p < 0{,}001$) и ретроцервикальном эндометриозе ($p = 0{,}008$).

3. По данным иммуногистохимического исследования овариальных эндометриоидных кист III стадии в пролиферативную фазу цикла выраженная экспрессия гепараназы в эпителии ассоциирована с субэпителиальной воспалительно-клеточной инфильтрацией и наличием болевого синдрома в 3–5 баллов по визуальной аналоговой шкале. Экспрессия гепараназы в ядрах эпителия эндометрием положительно коррелирует с тазовой болью в 3–5 баллов по визуальной аналоговой шкале ($rs = 0{,}902$) и с подэпителиальной воспалительной инфильтрацией ($rs = 0{,}887$) ($p < 0{,}0001$); также выявлена сильная отрицательная корреляция с проявлениями фиброза цитогенной стромы ($rs = –0{,}902$). Экспрессия гепарансульфат протеогликана синдекана-1 в эпителии эндометрием снижена и не имеет корреляции с высокой экспрессией гепараназы.

4. При эндометриозе яичников III стадии относительная экспрессия (по

мРНК) корового белка HSPG2/перлекана и гепараназы в эндометриоидных гетеротопиях в пролиферативную фазу цикла достоверно (в 2 раза, $p < 0,05$) превышает их относительную экспрессию в эуэндометрии тех же пациенток. По данным количественного ИГХ-анализа, содержание суммарных гепарансульфатов, коровых белков трех представителей данного семейства протеогликанов и гепараназы статистически значимо ($p < 0,05$) выше в гетеротопическом эндометрии по сравнению с эутопическим.

5. Установлена положительная корреляция между относительной экспрессией (по мРНК) гепараназы в эндометриоидных гетеротопиях при эндометриозе яичников III стадии и содержанием онкомаркера CA125 в сыворотке крови.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании пациенток с подозрением на эндометриоз необходимо оценивать болевой синдром с использованием визуальной аналоговой шкалы (ВАШ).

2. При диспареунии и хронической тазовой боли у женщин репродуктивного возраста следует расширять показания к лапароскопии с целью подтверждения или исключения наружного генитального эндометриоза.

3. Болевой синдром и повышение уровня маркера CA125 крови являются клиническими маркерами активности эндометриоидной болезни, что целесообразно учитывать при выборе хирургической тактики и периоперационного сопровождения пациенток.

4. Рекомендовано иммуногистохимическое исследование гепараназы в эндометриоидных гетеротопиях: при повышенной экспрессии целесообразно назначение адъювантной супрессивной терапии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Особенности экспрессии эндогликозидазы в очагах аденомиоза у пациенток репродуктивного возраста с миомой тела матки / И. О. Маринкин, Л. А. Пивень, Д. А. Соляников [и др., в том числе **Ю. С. Тимофеева**] // **Акушерство и гинекология**. – 2016. – № 11. – С. 79–85.

2. Особенности экспрессии синдекана-1 и гепараназы в эпителии эндометриоидных кист яичников третьей стадии / И. О. Маринкин, **Ю. С. Тимофеева**, В. М. Кулешов [и др.] // **Акушерство и гинекология**. – 2018. – № 11. – С. 86–91.

3. Анализ проявлений болевого синдрома при наружном генитальном эндометриозе I – III стадий / **Ю. С. Тимофеева**, А. В. Волчек, В. М. Кулешов [и др.] // **Акушерство и гинекология**. – 2019. – № 11. – С. 129–135.

4. Экспрессия гепарансульфатов в операционном материале эндометриоидных кист яичников / С. В. Айдагулова, **Ю. С. Тимофеева**, А. В. Волчек [и др.] // **Вестник ВолгГМУ**. – 2020. – № 4. – С. 96–99.

5. Исследование содержания гепарансульфат протеогликанов в эутопическом и

гетеротопическом эндометрии при эндометриозе яичников / **Ю. С. Тимофеева**, Д. К. Соколов, Э. В. Григорьева [и др.] // **Акушерство и гинекология**. – 2021. – № 3. – С. 101–109.

6. The role of heparansulfate degradation in adenomyosis / S. V. Aidagulova, D. A. Solyanikov, **Y. S. Timofeeva**, I. O. Marinkin // **International Journal of Molecular Medicine**. – 2016. – Vol. 38, Suppl. 1. – № 285. – P. S51.

7. Факторы снижения рецептивности эндометрия при генитальном эндометриозе / И. О. Маринкин, С. В. Айдагулова, В. М. Кулешов, **Ю. С. Тимофеева** // Репродуктивная медицина. – 2020. – № 2. – С. 28–38.

8. **Тимофеева, Ю. С.** Клиническое и иммуногистохимическое изучение эндометриоза яичников / **Ю. С. Тимофеева**, Г. А. Авдиюк // SCIENCE4HEALTH 2013. Клинические и теоретические аспекты современной медицины : материалы 5-й Международной научной конференции. – Москва, 2013 – С. 113–114.

9. **Timofeeva, Yu.** The ovarian endometrial cysts connective tissue remodeling / **Yu. Timofeeva** // Rethinking Medical Research : 25th European Students Conference. – Berlin, Germany, 2014. – P. 221.

10. Aidagulova, S. V. Heparanase expression is associated with inflammation in ovarian endometrial cysts of early reproductive-age women / S. V. Aidagulova, **Y. S. Timofeeva**, I. O. Marinkin // 7 lakes proteoglycans : abstract book of international conference. – Varese, Italy, 2017. – P. 52.

11. Syndecan-1 expression in ovarian endometrioid cancer tissue has negative correlation with estrogen status / A. V. Volchek, **Yu. S. Timofeeva**, Ya. M. Evseeva [et al.] // Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/ Systems Biology : abstracts of the 12th International Multiconference. – Novosibirsk, 2020. – P. 551–552.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМГ	– антимюллеров гормон
ВАШ	– визуальная аналоговая шкала
ГСПГ / HSPGs	– гепарансульфат протеогликаны
ИГХ	– иммуногистохимия
мРНК	– матричная РНК
НГЭ	– наружный генитальный эндометриоз
ОТ-ПЦР	– полимеразная цепная реакция (обратная транскрипция)
ФСГ	– фолликулостимулирующий гормон
ХТБ	– хроническая тазовая боль
AFS/ASRM	– американское общество по проблемам фертильности
CA125	– онкомаркер - Cancer Antigen 125
CD138	– кластер дифференцировки 138 (синоним - SDC1 – синдекан-1)
DAB	– диаминобензидин
GAPDH	– глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ген «домашнего хозяйства»)
GPC1	– глипикан-1
HPSE	– гепараназа
HSPG2/Perl	– перлекан
SDC1	– синдекан-1
VEGF	– фактор роста эндотелия сосудов