

Роль мутаций генов PI3K/AKT/mTOR сигнального пути в снижении овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом

О.А. Мелкозерова[✉], Е.О. Окулова, А.А. Михельсон, Т.Б. Третьякова

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

Аннотация

Цель. Изучить влияние глубокого инфильтративного эндометриоза на состояние овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста, а также оценить спектр мутаций в гене *PIK3CA* среди больных с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза.

Материалы и методы. В основную группу исследования вошли 50 пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом, у 18 из которых это заболевание сочеталось с эндометриозами яичников. В группу сравнения включили 25 женщин репродуктивного возраста, которым выполнили лапароскопическую метропластику несостоятельного рубца на матке после операции кесарева сечения. У всех больных проводились определение уровня антимюллерова гормона, фолликулостимулирующего гормона и эстрадиола в крови методом иммуноферментного анализа, а также подсчет количества антральных фолликулов в яичниках при трансвагинальном ультразвуковом исследовании. Поиск активирующих мутаций гена *PIK3CA* осуществлялся методом секвенирования ДНК нового поколения в образцах тканей эндометриом яичников у пациенток с сочетанием инфильтративного эндометриоза и эндометриоидных кист яичников (n=18), а также в биоптатах здоровой ткани яичника у всех женщин основной группы (n=50) и группы сравнения (n=25).

Результаты. При оценке состояния овариального резерва у пациенток 2 групп выявлено, что уровень антимюллерова гормона у больных с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза составил $2,6 \pm 2,2$ нг/мл, тогда как в группе сравнения – $3,6 \pm 3,5$ нг/мл, однако разница не достигла статистической значимости $p > 0,05$. Количество антральных фолликулов по данным трансвагинального ультразвукового исследования значительно ниже в основной группе ($8,5 \pm 4,5$), чем в группе сравнения ($12,2 \pm 4,1$), $p = 0,001$. Данная разница являлась статистически значимой как для пациенток с наличием эндометриом яичников ($6,0 \pm 4,2$, $p < 0,001$), так и без заболевания ($9,8 \pm 4,2$, $p = 0,04$). Исследование не выявило мутаций гена *PIK3CA* в образцах тканей эндометриом яичников у пациенток с сочетанием инфильтративного эндометриоза и эндометриоидных кист яичников, а также ни в одном из биоптатов здоровой ткани яичника у женщин основной группы и группы сравнения методом секвенирования ДНК нового поколения.

Заключение. Наличие глубокого инфильтративного эндометриоза ассоциировано со снижением овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста независимо от наличия эндометриоидного поражения яичников. Необходимы популяционные исследования для выявления мутаций данного гена при эндометриозе, а также других генов, кодирующих белки-регуляторы антиапоптогического сигнального пути PI3K/AKT/mTOR с целью выявления механизма истощения овариального резерва при инфильтративной форме наружного генитального эндометриоза.

Ключевые слова: бесплодие, глубокий инфильтративный эндометриоз, овариальный резерв, эндометриома яичника

Для цитирования: Мелкозерова О.А., Окулова Е.О., Михельсон А.А., Третьякова Т.Б. Роль мутаций генов PI3K/AKT/mTOR сигнального пути в снижении овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом. Гинекология. 2021;23(6):548–553. DOI: 10.26442/20795696.2021.6.201012

ORIGINAL ARTICLE

The role of mutations in the PI3K/AKT/mTOR signal pathway in decreasing ovarian reserve in reproductive patients with deep infiltrative endometriosis

Oxana A. Melkozerova[✉], Ekaterina O. Okulova, Anna A. Mikhelson, Tatyana B. Tretyakova

Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care, Ekaterinburg, Russia

Abstract

Aim. To study the effect of deep infiltrative endometriosis on the state of the ovarian reserve in patients of reproductive age, as well as to evaluate the spectrum of mutations in the *PIK3CA* gene among patients with infiltrative form of external genital endometriosis.

Информация об авторах / Information about the authors

[✉]Мелкозерова Оксана Александровна – д-р мед. наук, зам. дир. Института по науке ФГБУ «Уральский НИИ ОММ». ORCID: 0000-0002-4090-0578

Окулова Екатерина Олеговна – аспирант, мл. науч. сотр. отд-ния сохранения репродуктивной функции ФГБУ «Уральский НИИ ОММ». E-mail: cat93_07@mail.ru; ORCID: 0000-0002-3035-2862

Михельсон Анна Алексеевна – д-р мед. наук, рук. отд-ния сохранения репродуктивной функции, зав. отд-нием гинекологии ФГБУ «Уральский НИИ ОММ». E-mail: ann_lukach@list.ru; ORCID: 0000-0003-1709-6187

Третьякова Татьяна Борисовна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отд. биохимических методов исследования с группой генетики ФГБУ «Уральский НИИ ОММ». E-mail: tbtreyakova@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-5715-7514

[✉]Oxana A. Melkozerova – D. Sci. (Med.), Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care. ORCID: 0000-0002-4090-0578

Ekaterina O. Okulova – Graduate Student, Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care. E-mail: cat93_07@mail.ru; ORCID: 0000-0002-3035-2862

Anna A. Mikhelson – D. Sci. (Med.), Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care. E-mail: ann_lukach@list.ru; ORCID: 0000-0003-1709-6187

Tatyana B. Tretyakova – Cand. Sci. (Med.), Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care. E-mail: tbtreyakova@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-5715-7514

Materials and methods. The main group of the study included 50 patients of reproductive age with deep infiltrative endometriosis, in 18 of whom deep infiltrative endometriosis was combined with ovarian endometriomas. The comparison group included 25 patients of reproductive age who underwent laparoscopic metroplasty of an inconsistent uterine scar from a cesarean section. All patients underwent determination of the level of anti-Müllerian hormone, follicle-stimulating hormone and estradiol in the blood by enzyme immunoassay, as well as counting the number of antral follicles in the ovaries during transvaginal ultrasound examination. The search for activating mutations of the *PIK3CA* gene was carried out by sequencing a new generation of DNA in tissue samples of ovarian endometriomas in patients with a combination of infiltrative endometriosis and endometrioid ovarian cysts ($n=18$), as well as in biopsies of healthy ovarian tissue in all patients of the main group ($n=50$) and comparison groups ($n=25$).

Results. When assessing the state of the ovarian reserve in the patients of the two groups, it was found that the anti-Müllerian hormone level in the patient with the infiltration form of external genital endometriosis was 2.6 ± 2.2 ng/ml, while in the comparison group it was 3.6 ± 3.5 ng/ml, however, the difference did not reach statistical significance, $p > 0.05$. The number of antral follicles according to transvaginal ultrasound was significantly lower in the main group (8.5 ± 4.5) than in the comparison group (12.2 ± 4.1), $p = 0.001$. This difference was statistically significant both for patients with ovarian endometriomas (6.0 ± 4.2 , $p < 0.001$) and for patients without ovarian endometriomas (9.8 ± 4.2 , $p = 0.04$). Our study did not reveal *PIK3CA* gene mutations in any of the ovarian endometrioma tissue samples from patients with a combination of infiltrative endometriosis and endometrioid ovarian cysts, as well as in none of the healthy ovarian tissue biopsies from patients of the main group and the comparison group using the new generation DNA sequencing method.

Conclusion. The presence of deep infiltrative endometriosis is associated with a decrease in ovarian reserve in patients of reproductive age, regardless of the presence of endometrioid ovarian lesions. Population studies are needed to identify mutations of this gene in endometriosis, as well as to study mutations of other genes encoding proteins regulating the antiapoptotic signaling pathway PI3K/AKT/mTOR, to identify the mechanism of ovarian reserve depletion in infiltrative form of external genital endometriosis.

Keywords: infertility, deep infiltrative endometriosis, ovarian reserve, ovarian endometrioma

For citation: Melkozerova OA, Okulova EO, Mikhelson AA, Tretyakova TB. The role of mutations in the PI3K/AKT/mTOR signal pathway in decreasing ovarian reserve in reproductive patients with deep infiltrative endometriosis. *Gynecology*. 2021;23(6):548–553. DOI: 10.26442/20795696.2021.6.201012

Введение

Эндометриоз, по данным различных авторов, выявляется у 5–15% женщин репродуктивного возраста. Одна из наиболее частых причин обращения больных эндометриозом за врачебной помощью – бесплодие, которым страдают от 25 до 50% пациенток с данным заболеванием. Точная патофизиология бесплодия при эндометриозе не установлена, предполагается многофакторное воздействие генетически и морфологически измененной эндометриодной ткани на органы репродуктивной системы [1–5].

Среди разнообразных факторов, определяющих бесплодие или субфертильность у женщин, наиболее важным является истощение пула остаточных фолликулов яичника [6].

Недавние исследования подтверждают снижение овариального резерва у пациенток с генитальным эндометриозом независимо от локализации эндометриодных гетеротопий [7–10].

Механизм снижения овариального резерва при глубоком инфильтративном эндометриозе до настоящего времени не установлен. Учитывая, что эндометриоз – пролиферативное заболевание, характерными чертами которого являются способность к инфильтративному росту, отсутствие выраженной капсулы вокруг эндометриодного очага, прорастание в соседние органы, можно предположить повышенную антиапоптотическую активность эктопического эндометрия при данном заболевании. В последние годы активно изучается влияние регуляторов апоптоза на изменение овариального резерва при наружном генитальном эндометриозе.

Изучается роль антиапоптотического киназного сигнального пути PI3K/AKT/mTOR в регуляции овариального резерва. Это один из универсальных внутриклеточных сигнальных путей, характерных для большинства клеток человека, который отвечает за уход от апоптоза, рост и пролиферацию клеток. Данный сигнальный путь играет значимую роль в прогрессировании эндометриоза, активируя пролиферацию и подавляя апоптоз эндометриодных клеток [11].

Исследования мутаций гена *PIK3CA*, кодирующего каталитическую субъединицу фермента фосфатидилинозитол-3-киназы, нашли свое широкое применение в области онкологии, и в настоящее время мало изучена роль мутаций данного гена при эндометриозе.

Цель исследования – изучить влияние глубокого инфильтративного эндометриоза на состояние овариального

резерва у пациенток репродуктивного возраста, а также оценить спектр мутаций в гене *PIK3CA* среди женщин с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза.

Материалы и методы

Проведено проспективное когортное исследование, включившее 75 пациенток репродуктивного возраста, проходивших лечение на базе гинекологического отделения ФГБУ «Уральский НИИ ОММ» в период с 2019 по 2020 г. Основную группу составили 50 женщин репродуктивного возраста с глубоким инфильтративным эндометриозом, у 18 из которых это заболевание сочеталось с эндометриомами яичников. Хирургическое лечение пациенток основной группы осуществлялось лапароскопическим доступом и заключалось в максимальном иссечении эндометриодных инфильтратов в пределах здоровых тканей малого таза и удалении эндометриом яичников путем энуклеации псевдокапсулы эндометриом с точечной прецизионной биполярной коагуляцией сосудов ложа. У всех больных, вошедших в основную группу, диагноз верифицирован гистологически.

В группу сравнения вошли 25 пациенток репродуктивного возраста, которым выполнили лапароскопическую метропластику по поводу несостоятельности рубца на матке после операции кесарева сечения за исключением пациенток с эндометриозом несостоятельного рубца на матке.

Все участники настоящего исследования подписали письменное информированное согласие на участие в нем. Предварительно протокол исследования обсудили и согласовали на локальном этическом комитете.

Проведен анализ соматического и гинекологического анамнеза, менструальной и репродуктивной функций, а также особенностей клинической картины заболевания у пациенток обеих групп.

С целью оценки состояния овариального резерва у пациенток двух групп проводилось определение уровня антимюллерова гормона (АМГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и эстрадиола (E_2) в крови методом иммуноферментного анализа на 2–5-й день менструального цикла, а также подсчет количества антральных фолликулов в яичниках при трансвагинальном ультразвуковом исследовании в раннюю фолликулярную фазу.

Поиск мутаций гена *PIK3CA* осуществлялся в образцах тканей эндометриом яичников у пациенток с сочетанием инфильтративного эндометриоза и эндометриодных

кист яичников ($n=18$), а также в биоптатах здоровой ткани яичника у всех женщин основной группы ($n=50$) и группы сравнения ($n=25$). Изучали наиболее часто описанные в литературе активирующие мутации гена *PIK3CA*: с.1624G>A (р.E542K), с.1625A>G (р.E542G), с.1625A>T (р.E542V), с.1633G>A (р.E545K), с.1634A>G (р.E545G), с.1635G>T (р.E545D), с.1636C>G (р.Q546E), с.1636C>A (р.Q546K), с.1637A>C (р.Q546P), с.1637A>G (р.Q546R), с.3139C>T (р.H1047Y), с.3140A>T (р.H1047L), с.3140A>G (р.H1047R).

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

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета прикладных программ, Excel, SPSS Statistics 22.0. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное значение и относительную величину в процентах, при проверке статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий использовали критерий Стьюдента, в остальных случаях хи-квадрат.

Результаты и обсуждение

Средний возраст пациенток сопоставим и составил $33\pm 5,14$ года в основной группе и $33\pm 3,61$ в группе сравнения ($p>0,05$). При исследовании антропометрических данных женщин в группах наблюдения достоверных отличий не выявлено, средний индекс массы тела пациенток основной группы – $22,27\pm 3,73$ кг/м², группы сравнения – $23,46\pm 3,90$ кг/м², $p>0,05$.

Большинство больных из основной группы (84%) имели высшее образование, что статистически значимо выше группы сравнения (52%), $p=0,004$. Пациентки 2 групп сравнимы по характеру сопутствующей соматической патологии. Частота курения среди женщин составила 8,0% в каждой группе, $p>0,05$.

Возраст менархе, продолжительность менструального цикла и продолжительность менструального кровотечения сопоставимы в группах, $p>0,05$. Болезненный характер менструаций наблюдался более чем у 1/2 участниц основной группы (52%), что было значимо выше, чем у пациенток группы сравнения (16%), $p=0,003$. Нарушение менструального цикла отмечали 16% женщин с эндометриозом и 72% с несостоятельностью рубца на матке от операции кесарева сечения ($p<0,001$), что объясняется характером патологии.

Средний возраст начала половой жизни также сравним в группах ($p>0,05$). Отсутствовали статистические различия по частоте использования комбинированных оральных контрацептивов в группах ($p>0,05$).

Хотя бы одни роды в анамнезе имели 24% пациенток основной группы и 100% женщин группы сравнения

($p<0,001$), что связано с отбором в данную группу участниц исследования с анамнезом оперативного родоразрешения. Отсутствовали значимые различия по частоте встречаемости медицинских аборт, самопроизвольных выкидышей, неразвивающихся и эктопических беременностей у пациенток обеих групп ($p>0,05$).

Частота бесплодия значимо выше у больных эндометриозом и составила 42% против 16% в группе сравнения ($p=0,025$). При этом отмечается преобладание первичного бесплодия (76%) над вторичным (24%) среди пациенток с эндометриозом ассоциированным бесплодием.

При оценке гинекологического анамнеза определили, что эктопия шейки матки отмечалась у 20% женщин основной группы, тогда как у пациенток группы сравнения это заболевание не выявили ($p=0,017$). У 12% больных инфильтративный эндометриоз сочетался с врожденными пороками развития внутренних половых органов, у пациенток группы сравнения врожденных пороков развития половых органов не отмечалось ($p=0,071$). Миома матки встречалась несколько чаще в основной группе (34%), чем в группе сравнения (20%), однако разница не была статистически значимой ($p>0,05$). Также не обнаружено достоверных различий по частоте встречаемости других гинекологических заболеваний в 2 группах.

В основной группе 22% пациенток перенесли хирургическое лечение эндометриозом яичников в анамнезе в среднем $4,5\pm 1,07$ года назад. Хирургическое иссечение очагов эндометриоза испытали 12% женщин основной группы в среднем $2,7\pm 1,43$ года назад. При оценке анамнеза других гинекологических операций значимых различий в 2 группах не выявлено.

Пациентки с наличием глубокого инфильтративного эндометриоза чаще страдали хронической тазовой болью (82%), чем пациентки группы сравнения (16%); $p<0,001$. Диспареуния также отмечалась чаще в основной группе (30%), чем в группе сравнения (8%); $p=0,032$. Дисхезию и дизурию обнаружили у 4% пациенток основной группы, у женщин из группы сравнения данных симптомов не наблюдалось ($p>0,05$).

При оценке состояния овариального резерва у пациенток 2 групп выявили, что уровень АМГ у больных с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза составил $2,6\pm 2,2$ нг/мл, тогда как в группе сравнения – $3,6\pm 3,5$ нг/мл, однако разница не достигла статистической значимости ($p>0,05$). У пациенток раннего репродуктивного возраста (до 35 лет) разница в среднем уровне АМГ между двумя группами была более выраженной и составила $1,5$ нг/мл ($2,8\pm 2,1$ нг/мл в основной группе, $4,3\pm 4,0$ нг/мл в группе сравнения), однако статистической значимости также не достигла ($p>0,05$). Стоит отметить, что не выявили статистически значимой разницы в уровне АМГ у пациенток с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза, сочетающегося с эндометриозом яичников ($2,4\pm 1,9$ нг/мл) и не объединенного с поражением яичников ($2,7\pm 2,4$ нг/мл); $p>0,05$.

Средний уровень ФСГ достоверно не отличался у пациенток 2 групп, составив $6,8\pm 4,2$ мМЕ/мл в основной группе и $7,6\pm 10,3$ мМЕ/мл в группе сравнения ($p>0,05$). При исключении женщин позднего репродуктивного возраста (старше 35 лет) отмечалось некоторое преобладание среднего уровня ФСГ в основной группе ($6,8\pm 4,3$ мМЕ/мл), чем в группе сравнения ($4,9\pm 3,4$ мМЕ/мл), однако разница не была статистически значимой. Также не обнаружено статистически значимых различий по среднему уровню E_2 в крови между основной группой ($148,8\pm 128,8$ пг/мл) и группой сравнения

Таблица 1. Состояние овариального резерва у пациенток групп наблюдения**Table 1. Status of ovarian reserve in patients of the observation groups**

Показатель	Основная группа (n=50)	Группа сравнения (n=25)	p
АМГ, нг/мл	2,6±2,2	3,6±3,5	0,25
ФСГ, мМЕ/мл	6,8±4,2	7,6±10,3	0,72
Е ₂ , пг/мл	148,8±128,8	183,4±125,4	0,28
Количество антральных фолликулов	8,5±4,5	12,2±4,1	0,001*

Примечание. Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (M±s); *данные статистически значимы.

(183,4±125,4 пг/мл); $p > 0,05$, хотя и обращает на себя внимание более низкий его уровень в основной группе.

Количество антральных фолликулов по данным трансвагинального ультразвукового исследования значительно ниже в основной группе (8,5±4,5), чем в группе сравнения (12,2±4,1); $p = 0,001$. Стоит отметить, что эта разница являлась статистически значимой как для пациенток с наличием эндометриозом яичников (6,0±4,2; $p < 0,001$), так и для женщин без него (9,8±4,2; $p = 0,04$). Данные, отражающие состояние овариального резерва у пациенток 2 групп, представлены в табл. 1.

Полученные результаты свидетельствуют о снижении овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза независимо от наличия эндометриозидного поражения яичников. Механизм снижения овариального резерва при эндометриозе, особенно при отсутствии видимого поражения ткани яичников, до конца не изучен. В последние годы активно исследуется роль регуляторов апоптоза в уменьшении овариального резерва при эндометриозе.

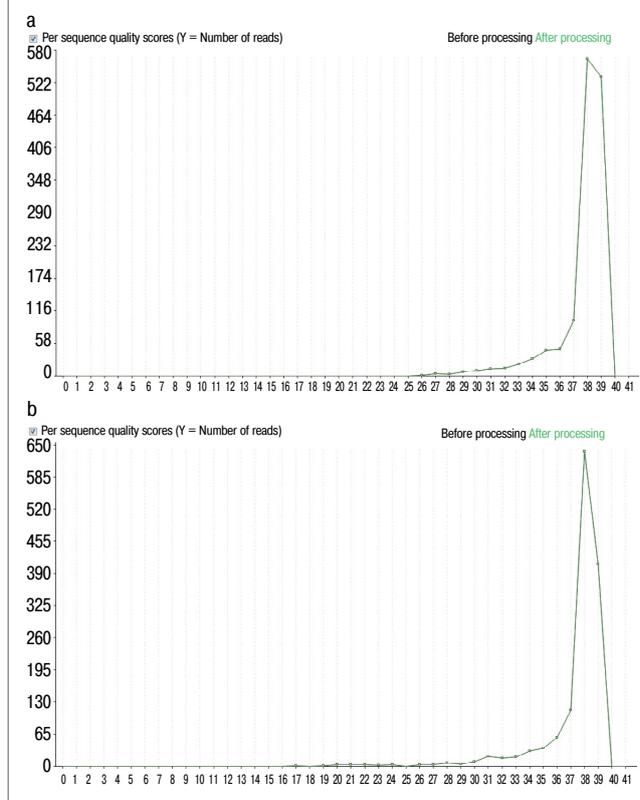
Недавно разработанный К. Kawamura и соавт. (2013 г.) метод *in vitro* активации первичных фолликулов у пациенток с первичной недостаточностью яичников привлек внимание к роли антиапоптотического киназного сигнального пути PI3K/AKT/mTOR в регуляции овариального резерва [11].

Сигнальный путь PI3K имеет большое значение для активации примордиальных фолликулов, что подчеркивается в исследованиях на трансгенных животных [12].

В своей работе А. Takeuchi и соавт. (2019 г.) продемонстрировали, что при эндометриозе доля примордиальных фолликулов снижена, а доля первичных, вторичных, антральных и растущих фолликулов увеличена по сравнению с контрольной группой по данным гистологического исследования ткани яичников. При этом показано, что при эндометриозе происходит активация сигнального пути PI3K/AKT/mTOR согласно результату иммуногистохимического исследования. Введение ингибитора AS101 сигнального пути PI3K/AKT/mTOR восстанавливало долю примордиальных фолликулов в мышинной модели эндометриоза до уровня контрольной группы. Данные результаты свидетельствуют о значительной роли активированного при эндометриозе сигнального пути PI3K/AKT/mTOR в преждевременном истощении пула примордиальных фолликулов и снижении овариального резерва у пациенток с эндометриозом [13].

В настоящее время описана роль мутаций гена *PIK3CA* в патогенезе рака молочной железы, эндометрия, шейки матки, толстого кишечника, легкого, яичников [14].

Атипичный эндометриоз яичников перерождается в эндометриозидную или светлоклеточную карциному в 15–32% случаев. Мутации в экзонах 10 (9) и 21 (20) гена *PIK3CA* являются в 20% эндометриозидных и светлоклеточных кар-

Рис. 1. Оценка качества прочтения прямой (а) и обратной (b) последовательностей ДНК 10-го экзона (1540–1664 п.н.) и части 21-го экзона (3030–3185 п.н.) гена *PIK3CA*.**Fig. 1. Assessment of the quality of reading the forward (a) and reverse (b) DNA sequences of exon 10 (1540–1664 bp) and part of exon 21 (3030–3185 bp) of the *PIK3CA* gene.**

цином яичников и являются неблагоприятным прогностическим фактором [15].

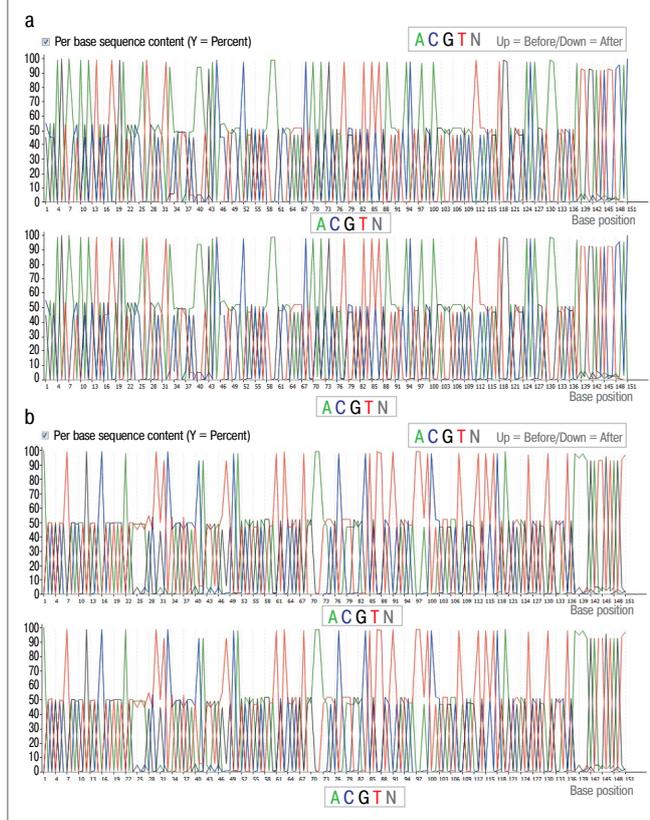
В последние годы появляются публикации исследований на тему роли мутаций онкогенов в патогенезе неонкологических заболеваний, в том числе эндометриоза [16, 17].

М. Anglesio и соавт. (2017 г.) проводили секвенирование экзона на наличие соматических мутаций у больных инфильтративным эндометриозом, который имеет наименьший риск малигнизации. Секвенирование экзона выявило соматические мутации у 19 (79%) из 24 пациенток. У 5 пациенток имелись известные мутации онкогенов *PIK3CA*, *ARID1A*, *KRAS* или *PPP2R1A* [18].

V. Lac и соавт. (2019 г.) в многоцентровом ретроспективном исследовании определяли наличие мутаций онкогенов, задействованных в сигнальных путях MAPK/RAS и PI3K/AKT/mTOR, в очагах послеоперационного эндометриоза передней

Рис. 2. Базовое содержание прямой (а) и обратной (б) последовательностей ДНК 10-го экзона (1540–1664 п.н.) и части 21-го экзона (3030–3185 п.н.) гена *PIK3CA*.

Fig. 2. Baseline content of the forward (a) and reverse (b) DNA sequences of exon 10 (1540–1664 bp) and part of exon 21 (3030–3185 bp) of the *PIK3CA* gene.



брюшной стенки (n=40) и очагах глубокого инфильтративного эндометриоза (n=36) с применением секвенирования ДНК нового поколения, капельной полимеразной цепной реакции и иммуногистохимического анализа. В целом соматические мутации онкогенов выявили в 11 (27,5%) случаях из 40 послеоперационного эндометриоза и в 13 (36,1%) случаях из 36 глубокого инфильтративного эндометриоза, включая точечные мутации в *KRAS*, *ERBB2*, *PIK3CA* и *CTNNB1*. Не определено статистически значимых различий в частоте обнаруживаемых соматических мутаций между послеоперационным и глубоким инфильтративным эндометриозом ($p>0,05$) [19].

Нами выделены и проанализированы участки ДНК 10 (9) экзона (1540–1664 последовательности нуклеотидов, 514–554 аминокислоты) и 21 (20) экзона (3030–3185 последовательности нуклеотидов, 1011–1061 аминокислоты) гена *PIK3CA* по прямой и обратной последовательностям. Среднее количество прочтений по прямой и обратной последовательностям участков ДНК составило $1629,4 \pm 340,5$, что соответствует хорошему качеству прочтений (рис. 1, 2).

Данное исследование не выявило мутаций гена *PIK3CA* ни в одном из образцов тканей эндометриом яичников у пациенток с сочетанием инфильтративного эндометриоза и эндометриоидных кист яичников (n=18), а также ни в одном из биоптатов здоровой ткани яичника у участниц основной группы (n=50) и группы сравнения (n=25) методом секвенирования ДНК нового поколения.

В более раннем исследовании Y. Zou и соавт. (2018 г.) идентифицировали в общей сложности 4 (4%) соматические му-

тации в 3 из 101 образца эндометриомы яичника (4/101), включая *KRAS* p.G12V, *PPP2R1A* p.S256F и 2 нонсенс-мутации *ARID1A* (p.Q403 и p.G1926), в то время как в остальных 7 генах (*BRAF*, *NRAS*, *HRAS*, *ERK1*, *ERK2*, *PTEN* и *PIK3CA*) мутации не выявлены. Кроме того, не обнаружили мутаций ни в одном из 10 генов как в эутопическом эндометрии женщин без эндометриоза (n=85), так и в здоровой ткани яичника пациенток с эндометриозом (n=62) [20].

Возможно, небольшой размер выборки не позволил авторам выявить мутации в гене *PIK3CA* у обследованных пациенток, и необходимо проведение масштабных популяционных исследований для выявления мутаций данного гена при эндометриозе. Также активация сигнального пути Р13К/АКТ/мTOR при эндометриозе может быть вызвана мутациями других генов, кодирующих белки-регуляторы сигнального пути Р13К/АКТ/мTOR, такие как тирозинкиназа c-kit, протеинкиназа В (АКТ), транскрипционный фактор FOXO3, фосфатаза и гомолог тензина (PTEN), мишень рапамицина млекопитающих (mTOR), что требует дальнейших исследований.

Заключение

Наличие глубокого инфильтративного эндометриоза ассоциировано со снижением овариального резерва у пациенток репродуктивного возраста независимо от наличия эндометриоидного поражения яичников.

Данное исследование не выявило известных активирующих мутаций в гене *PIK3CA* среди больных с инфильтративной формой наружного генитального эндометриоза.

Необходимы популяционные исследования для выявления мутаций данного гена при эндометриозе, а также исследование мутаций других генов, кодирующих белки-регуляторы антиапоптоического сигнального пути Р13К/АКТ/мTOR, для выявления механизма истощения овариального резерва при инфильтративной форме наружного генитального эндометриоза.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Эндометриоз. Клинические рекомендации Минздрава России, 2020 [Endometrioz. Klinicheskie rekomendatsii Minzdrava Rossii, 2020 (in Russian)].
2. Адамян Л.В., Салимова Д.Ф., Кондратович Л.М. Патогенетические аспекты эндометриоз-ассоциированного бесплодия. *Проблемы репродукции*. 2015;21(6):90-6 [Adamyan LV, Salimova DF, Kondratovich LM. Patogeneticheskie aspekty endometrioz-assotsirovannogo besplodiia. *Problemy reproduksii*. 2015;21(6):90-6 (in Russian)]. DOI:10.17116/repro201521682-88
3. Башмакова Н.В., Мелкозерова О.А., Михельсон А.А., Окулова Е.О. Роль средовых факторов в патогенезе бесплодия, ассоциированного с генитальным эндометриозом (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2019;25(5):42-8 [Bashmakova NV, Melkozerova OA, Mikhelson AA, Okulova EO. Rol sredovykh faktorov v patogeneze besplodiia, assotsirovannogo s genitalnym endometriozom (obzor literature). *Problemy reproduksii*. 2019;25(5):42-8 (in Russian)]. DOI:10.17116/repro20192505142
4. Мелкозерова О.А., Башмакова Н.В., Окулова Е.О. Генетические и эпигенетические механизмы бесплодия, ассоциированного с генитальным эндометриозом. *Акушерство и гинекология*. 2019;8:26-32 [Melkozerova OA, Bashmakova NV, Okulova EO. Genetic and epigenetic mechanisms of infertility associated with genital

- endometriosis. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;8:26-32 (in Russian)]. DOI:10.18565/aig.2019.8.26-32
5. Barnett R, Banks N, Decherney AH. Endometriosis and Fertility Preservation. *Clin Obstet Gynecol*. 2017;60(3):517-23. DOI:10.1097/GRF.0000000000000311
 6. Hsueh AJ. Fertility: the role of mTOR signaling and KIT ligand. *Curr Biol*. 2014;24(21):R1040-2. DOI:10.1016/j.cub.2014.09.033
 7. Ashrafi M, Arabipour A, Hemat M, Salman-Yazdi R. The impact of the localisation of endometriosis lesions on ovarian reserve and assisted reproduction techniques outcomes. *J Obstet Gynaecol*. 2019;39(1):91-7. DOI:10.1080/01443615.2018.1465898
 8. Romanski PA, Brady PC, Farland LV, et al. The effect of endometriosis on the antimüllerian hormone level in the infertile population. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(6):1179-84. DOI:10.1007/s10815-019-01450-9
 9. Kasapoglu I, Ata B, Uyaniklar O, et al. Endometrioma-related reduction in ovarian reserve (ERROR): a prospective longitudinal study. *Fertil Steril*. 2018;110(1):122-7. DOI:10.1016/j.fertnstert.2018.03.015
 10. Garavaglia E, Sala C, Taccagni G, et al. Fertility Preservation in Endometriosis Patients: Anti-Müllerian Hormone Is a Reliable Marker of the Ovarian Follicle Density. *Front Surg*. 2017;4:40. DOI:10.3389/fsurg.2017.00040
 11. Kawamura K, Cheng Y, Suzuki N, et al. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110(43):17474-9. DOI:10.1073/pnas.1312830110
 12. Rehntz J, Alcoba DD, Brum IS, et al. FMR1 and AKT/mTOR signalling pathways: potential functional interactions controlling folliculogenesis in human granulosa cells. *Reprod Biomed Online*. 2017;35(5):485-93. DOI:10.1016/j.rbmo.2017.07.016
 13. Takeuchi A, Koga K, Satake E, et al. Endometriosis triggers excessive activation of primordial follicles via PI3K-PTEN-Akt-Foxo3 pathway. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(11):5547-54. DOI:10.1210/jc.2019-00281
 14. Alqahtani A, Ayesh HSK, Halawani H. PIK3CA Gene Mutations in Solid Malignancies: Association with Clinicopathological Parameters and Prognosis. *Cancers (Basel)*. 2019;12(1):93. DOI:10.3390/cancers12010093
 15. Su YF, Tsai EM, Chen CC, et al. Targeted sequencing of a specific gene panel detects a high frequency of ARID1A and PIK3CA mutations in ovarian clear cell carcinoma. *Clin Chim Acta*. 2019;494:1-7. DOI:10.1016/j.cca.2019.03.003
 16. Adashek JJ, Kato S, Lippman SM, Kurzrock R. The paradox of cancer genes in non-malignant conditions: implications for precision medicine. *Genome Med*. 2020;12(1):16. DOI:10.1186/s13073-020-0714-y
 17. Adewuyi EO, Sapkota Y, Auta A, et al. Shared Molecular Genetic Mechanisms Underlie Endometriosis and Migraine Comorbidity. *Genes*. 2020;11(3):268. DOI:10.3390/genes11030268
 18. Anglesio MS, Papadopoulos N, Ayhan A, et al. Cancer-Associated Mutations in Endometriosis without Cancer. *N Engl J Med*. 2017;376(19):1835-48. DOI:10.1056/NEJMoa1614814
 19. Lac V, Verhoef L, Aguirre-Hernandez R, et al. Iatrogenic endometriosis harbors somatic cancer-driver mutations. *Hum Reprod*. 2019;34(1):69-78. DOI:10.1093/humrep/dey332
 20. Zou Y, Zhou JY, Guo JB, et al. The presence of KRAS, PPP2R1A and ARID1A mutations in 101 Chinese samples with ovarian endometriosis. *Mutat Res*. 2018;809:1-5. DOI:10.1016/j.mrfmmm.2018.03.001

Статья поступила в редакцию / The article received: 26.03.2021

Статья принята к печати / The article approved for publication: 24.12.2021