

**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ- СКОПЈЕ
ЈЗУ УНИВЕРЗИТЕТСКА КЛИНИКА ЗА
ГИНЕКОЛОГИЈА И АКУШЕРСТВО - СКОПЈЕ**

ПРОЕКТ:

**КОРЕЛАЦИЈА НА ИНФЛАМАТОРНИ ЦИТОКИНИ И ТУМОР МАРКЕРИ КАЈ
ПАЦИЕНТКИ СО ЕНДОМЕТРИОЗА**

Јуни, 2021 година

Наслов на проект:

Корелација на инфламаторни цитокини и тумор маркери кај пациентки со ендометриоза

Раководител на проект: Проф. д-р Јадранка Георгиевска

Учесници во проект:

Проф. д-р Весна Антоvsка

Проф. д-р Горан Димитров

Проф. д-р Глигор Тофоски

Проф. д-р Ана Данева Маркова

Доц. д-р Викторија Јовановска

Доц. д-р Игор Алуловски

Доц. д-р Сашо Стојчевски

Доц. д-р Елена Цикова

Доц. д-р Драги Дабески

Доц. д-р Ирена Алексиовска

Доктор на мед. науки: Александра Атанасова

Асс. Д-р Миле Тантуровски

Асс. Д-р Даниел Милковски

Асс. Д-р Саше Јовчевски

Асс. Д-р Боривоје Павловски

Статистичка анализа на податоци за проектот: Проф. д-р Бети Зафирова-Иванова

Голема благодарност до деканката на Медицинскиот факултет во Скопје Проф. д-р Соња Топузовска и до деканската управа за стручната и материјална поддршка за изработката на овој проект

Содржина

1. Абстракт на македонски јазик -----	5
2. Абстракт на англиски јазик -----	6
3. Вовед -----	7
3.1. Епидемиологија и патогенеза на ендометриозата -----	7
3.2. Инфламаторна теорија за етиопатогенезата на ендометриозата -----	7
4. Цели на проектот -----	9
5. Материјал и методи -----	9,10
3.1. Метода за одредување на концентрацијата на интерлеукин 6 (IL-6) -----	10
3.2. Метода за одредување на концентрацијата на тумор некротизирачки фактор α (TNF- α) -----	10
3.3. Метода за одредување на концентрацијата на високо сензитивно ЦПП (HsCRP) -	10
3.4. Метода за одредување на концентрацијата на СА-125 -----	10
4. Статистичка анализа -----	11
5. Резултати -----	11-24
6. Дискусија -----	24-28
7. Заклучоци -----	28-29
8. Литература -----	29-30

АБСТРАКТ

Вовед: Ендометриозата е мултифакториелно заболување, чија етиопатогенеза не е разјаснета. Една од теориите за етиопатогенезата е инфламаторната теорија.

Цели: Да се развие практичен неинвазивен тест за дијагноза на ендометриозата преку корелации на серумските маркери на инфламација: високо сензитивниот Ц-реактивен протеин (hsCRP), цитокини (интерлеукин 6 –IL-6), тумор некротизирачки фактор алфа (TNF- α) и туморскиот маркер cancer antigen 125 (CA-125) меѓу здрави пациентки и пациентки со ендометриоза, да се утврди сензитивноста и специфичноста на секој биомаркер посебно во дијагнозата на ендометриозата и да се утврди кои биомаркери сигнификантно корелираат со стадиумот на ендометриозата.

Материјал и методи: Во проспективна студија на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство, Универзитет „Свети Кирил и Методиј“ во Скопје, Р.С. Македонија беа вклучени 138 испитанички на репродуктивна возраст меѓу 18-50 години. (83 со дијагноза ендометриоза оперирани со лапароскопија или лапаротомија) и контролна група од 55 здрави жени во период од 01.09.2018 година до 01.05.2021. Серумските вредности на интерлеукин 6 (IL-6), тумор некротизирачки фактор алфа (TNF- α), високо специфичен Ц-реактивен протеин (hsCRP) и туморскиот маркер CA-125 беа евалуирани.

Резултати: Серумските вредности на CA-125, IL-6 и TNF- α и hsCRP беа сигнификантно повисоки кај пациентките со ендометриоза во споредба со контролната група. Повисоки серумски концентрации на IL-6 и hsCRP беа најдени кај пациентки со 3-4 стадиум на ендометриоза во однос на контролната група. Површината под ROC кривата (AUC) за IL-6, CA-125 и TNF- α покажа дека како поединечни маркери сите имаат дискриминаторен капацитет за дијагноза на пациентки со 1-2 стадиум на ендометриоза. Од друга страна, hsCRP како поединечен маркер не е корисен во разграничување на пациентки со лесна ендометриоза од здрави пациентки. CA-125 како поединечен биомаркер е добар за дијагноза на пациентки во 3-4 стадиум на ендометриоза. IL-6 и hsCRP како поединечни тестови имаат задоволителна дискриминаторска способност за дијагноза на ендометриоза од трети и четврти стадиум. TNF- α како поединечен биомаркер не е корисен во разграничување на пациентки со 3-4 стадиум на ендометриоза од здрави пациентки.

Заклучоци: Комбинираниот модел претставува тест со добар дискриминирачки капацитет за пациентки со ендометриоза наспрема контролна група.

Клучни зборови: ендометриоза, воспаление, цитокини, интерлеукин, серумски тумор маркери

ABSTRACT

Introduction: Endometriosis is a multifactorial disease, which etiopathogenesis is not understood. One of the theories for etiopathogenesis is inflammatory theory.

Aims: To develop a practical non-invasive test for diagnosis of endometriosis by using correlations between serum markers for inflammation: high sensitive C-reactive protein (hsCRP), cytokines (Interleukin 6-IL-6), tumor necrotizing factor alpha (TNF- α), tumor marker cancer antigen 125 (CA-125) between healthy patients and those with endometriosis, to calculate sensitivity and specificity of each biomarker in diagnosis of endometriosis and to see which biomarkers significantly correlate with stage of endometriosis.

Materials and methods: In a prospective study on University clinic for gynecology and obstetrics, University, „St. Cyrilus and Methodius“ in Skopje, R.N. Macedonia were included 138 patients on reproductive age between 18-50 years (83 with diagnosis endometriosis operated laparoscopically or with laparotomia) and control group of 55 healthy women in period between 01.09.2018 and 01.05.2021. Serum levels of IL-6, TNF- α , hs-CRP and tumor marker CA-125 were evaluated.

Results: The serum levels of CA-125, IL-6, TNF- α and hs-CRP were significantly higher in patients with endometriosis compared with control group. Higher serum concentration of IL-6 and hs-CRP were found in patients with stage 3-4 endometriosis v.s. control group. Area under curve (AUC) for IL-6, CA-125 and TNF- α showed that as a single marker all have discriminator capacity for diagnosis of patient with stage 1-2 of endometriosis. On the other side, hsCRP as a single marker is not useful for patient with stage 1-2 of endometriosis compared with controls. Ca-125 as a single biomarker is good for diagnosis of patients with stage 3-4 of endometriosis. IL-6 and hsCRP as a single test have good discriminator capacity for diagnosis of stage 3-4 of endometriosis. TNF- α as a single biomarker is not useful in discrimination between patients with stage 3-4 of endometriosis compared with controls.

Conclusions: Combined model represented test with excellent discriminatory capacity for patients with endometriosis versus controls.

Key words: endometriosis, inflammation, cytokines, interleukin, serum tumor markers

1. ВОВЕД

1.1. Епидемиологија и патогенеза на ендометриозата

Ендометриоза представува заболување кое се карактеризира со присуство на ендометријални жлезди и ендометријална строма надвор од шуплината на матката. Ова ткиво реагира на репродуктивни хормони и тоа резултира со формирање на ендометриотични цисти во јајчниците и ендометриозни жаришта по перитонеумот, цревата и други места во абдоминалната празнина. Во клиничката слика на овие пациентки се сретнуваат: хронична карлична болка, дизменореја, диспареунија, пореметувања во менструалниот циклус, инфертилитет, но заболувањето може да биде и асимптоматско и да се открие како случаен наод при лапароскопија или лапаротомија. Се сретнува кај 6-10% од жените во репродуктивниот период и кај 30-50% пациентки со инфертилитет (1). Во дијагностицирањето на ова заболување можат да помогнат ултразвукот и магнетната резонанца (2). Денес златен стандард за дијагноза на ендометриозата е лапароскопијата, која овозможува визуелизација на ендометријалните жаришта како и биопсија на истите за хистопатолошка потврда на дијагнозата (3). Во исто време лапароскопијата, како и лапаратомијата овозможуваат утврдување на стадиумот на заболувањето според ревидираната класификација на ендометриоза од Американското здружение за репродуктивна медицина – rASRM (4). Бидејќи лапароскопијата како и лапаратомијата се ризични и скапи методи се истражуваат повеќе маркери од крвта за неинвазивна дијагноза на ендометриозата.

И покрај долгата историја на клиничко искуство и експериментални истражувања, патогенезата на ендометриозата сеуште не е точно утврдена. Постојат неколку теории, како: имплантациона теорија како последица на ретроградна менструација, теорија за целомна метаплазија, генетска теорија, имунолошка теорија, теорија за инфламација и други (5, 6).

1.2. Инфламаторна теорија за етиопатогенезата на ендометриозата

Според инфламаторната теорија, перитонеалното опкружување кај пациентките со ендометриоза може да биде инволвирано во патогенезата на заболувањето (7). Се смета дека перитонеалната течност кај пациентките со ендометриоза е исполнета со активирани макрофаги кои секретираат низа локални продукти како: фактори на раст и цитокини и затоа ендометриозата се смета за хронично инфламаторно заболување. Хроничната инфламација е придружена со создавање на фиброзно ткиво и локални перитонеални атхезии, ангиогенеза и пролиферација. Инфламаторниот процес кај ендометриозата предизвикува карлична болка и инфертилитет (8).

Постојат многу студии кои укажуваат на покачени вредности на активирани макрофаги и неколку цитокини во перитонеалната течност кај пациентки со ендометриоза, како: интерлеукин-6 (IL-6), интерлеукин 1 β , интерлеукин-8 (IL-8), tumor necrosis factor α (TNF- α), vascular endothelial growth factor (VEGF), макрофаген миграционен инхибиторен фактор (macrophage migration inhibitory factor – MIF) и други (9, 10, 11). Исто така, најдени

се покачени вредности на неколку инфламаторни биомаркери во серумот на пациентките со ендометриоза: Ц-реактивен протеин (CRP), интерлеукини (interleukin-4, interleukin-6, interleukin-8, TNF- α) и други (12).

Серумскиот канцер антиген (CA-125) претставува површински клеточен антиген со покачени серумски вредности кај најголем број пациентки со ендометриоза и затоа овој туморски маркер се препорачува во скринингот на ова заболување (13). Во повеќе студии се комбинира иследувањето на серумските концентрации на CA-125, CA 19-9 и CA 15-3, но дијагностичката вредност на овие туморски маркери кај ендометриозата е сеуште неконзистентна (14).

Централното место кај ендометриозата припаѓа на локалната инфламација. Се смета дека нарушувањата во имунолошкиот систем може да е причина за настанување на ендометриозата, особено во нарушувањето на функцијата на макрофагите со зголемена перитонеална секреција на низа цитокини и фактори на раст. Улогата на макрофагите во патогенезата на ендометриозата се состои во идентификација и деструкција на патогените, инфицирани и трансформирани клетки, а од друга страна активација, пролиферација и диференцијација на прекурсорни или стем клетки и генерирање на неоваскуларизација (15).

Како резултат на имунолошко-инфламаторната реакција која ги активира имунолошките клетки доаѓа до зголемена продукција на цитокини, фактори на раст и ангиогени фактори. Како резултат на системската имунолошка алтерација доаѓа до активација на моноцитите од периферната крв кои секретираат високо ниво на цитокини, како интерлеукин 6 (IL-6), васкуларен ендотелијален фактор на раст (VEGF) и тумор некротизирачки фактор алфа (TNF- α). IL-6 се смета дека има главна улога во растот и опстојувањето на ектопичното ендометријално ткиво. Interleukin-6 е регулатор на инфламацијата и имуниот одговор преку модулација на секрецијата на други цитокини, промоција на Т-клеточната активација, Б-клеточната диференцијација и инхибиција на растот на други клеточни линии. Interleukin-6 (IL-6) е цитокин кој е медијатор на имуниот систем и има поголем број биолошки дејствија. Познат е уште и како Б-клеточен стимулирачки фактор (BCSF). IL-6 е полипептид составен од 212 аминокиселини. Овој протеин прераснува во зрел протеин од 184 аминокиселини при различни степени на гликолизација на позиција 73 и 172, и фосфорилација. IL-6 има молекуларна тежина помеѓу 21,5 и 28 kDa. Зголемени вредности на серумски IL-6 можат да се јават кај повеќе различни заболувања како: сепса, автоимуни заболувања, лимфоми, АИДС, пациенти со инфекција или реакција на отфлање на трансплантант.

TNF- α се секретира од активираните макрофаги и има инфламаторно, цитотоксично и ангиогено дејство. TNF- α ја стимулира експресијата на мартикс металопроотеиназата од ендометријалното ткиво која учествува во инвазијата и ремоделирањето на ендометријалното ткиво. Тумор некротизирачки фактор α (cachectin) претставува протеин со 17 kDa, со тоа што биолошки активната форма на TNF- α е тример. Различни клетки имаат способност да синтетизираат TNF- α : макрофаги, CD4-Т клетки, како и НК клетки

при стимулација со липополисахариди. Своето дејство TNF- α го изразува преку различни клеточни рецептори и тоа: TNF- α рецептор 1 (p55) и TNF- α Рецептор 2 (p75). TNF- α може да биде покачен во состојби на сепса, автоимуни заболувања, различни инфективни состојби и при реакција на отфрлање на трансплантант.

2. ЦЕЛИ НА ПРОЕКТОТ

1. Да се утврди корелацијата на серумските маркери на инфламација и цитокини (interleukin-6, TNF- α , high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) и туморскиот маркер cancer antigen 125 (CA-125) меѓу здрави пациентки и пациентки со ендометриоза (кои според стадиумот на ендометриоза по класификацијата на ендометриоза по rASRM) ќе бидат поделени во две групи: први и втори стадиум – група A1 и трети и четврти стадиум - група A2).
2. Да се утврди сензитивноста и специфичноста на секој биомаркер посебно во дијагнозата на ендометриозата.
3. Врз основа на добиените резултати да се утврди кои биомаркери сигнификантно корелираат со стадиумот на ендометриоза.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Во проспективна студија на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство, Универзитет „Свети Кирил и Методиј“ во Скопје, Р.С. Македонија беа вклучени 138 испитанички на репродуктивна возраст меѓу 18-50 години. Од нив 83 беа со дијагноза ендометриоза и беа хоспитализирани на Клиниката за оперативен третман (лапароскопија или лапаротомија). Кај овие пациентки хистопатолошки беше потврдена дијагнозата ендометриоза постоперативно. Интраоперативно стадиумот на ендометриоза се одредуваше според ревидираната класификација на Американското здружение за Репродуктивна медицина (rASRM). Оперираниите пациентки беа поделени во две групи: Група A1 (пациентки во први и втори стадиум на ендометриоза) и група A2 (пациентки во трети и четврти стадиум на ендометриоза). Проектот се изведуваше во временски период од 01.09.2018 година до 01.05.2021 година. Проектот беше одобрен од Медико-етичката комисија на Медицински факултет-Скопје.

Контролната група се состоеше од 55 здрави жени во репродуктивен период кај кои е исклучено постоење на ендометриоза или некој друг облик на воспаление.

Ексклузиони критериуми беа:

1. суспектна дијагноза за малигнитет
2. менопауза
3. автоимуно заболување
4. пелвично воспалително заболување
5. претходна антиинфламаторна терапија за период пократок од 6 месеци пред почеток на проектот

По добивањето на информирана согласност за учество во проектот, земена е детална анамнеза од секоја жена која доброволно се вклучи во студијата. Потоа беше направена предоперативна ехосонографска евалуација. По соодветна предоперативна подготовка пациентките беа оперирани со лапароскопија или лапаротомија. Интраоперативно стадиумот за заболување се одредуваше според класификацијата на rASRM. По селектирање на пациентките, на секоја пациентка и беше земена венска крв (5 мл). Примероците на крв се оставаа на собна температура во период од 60 минути со цел крвта да коагулира. Потоа примерокот се центрифугираше 10 мин на 3000 вртежи во минута. Во серумот на пациентките беа одредувани серумските концентрации на interleukin- 6 (IL-6), тумор некротизирачки фактор алфа (TNF- α), високо специфичен Ц реактивен протеин (HsCRP) и туморскиот маркер СА-125 во Клиничко-биохемиската лабораторија на Клиниката за Гинекологија и акушерство во Скопје.

3.1. Метода за одредување на концентрацијата на интерлеукин 6 (IL-6)

Концентрацијата на interleukin-6 (IL-6) во серум се квантифицираше со имунометриски есеј (Immulate 2000 HP, Diagnostic Products Corp). Истиот представува секвенционален, двостран, цврсто-фазен, ензимски хемилуминисцентен есеј. Аналитичка сензитивност на тестот изнесува 2 pg/ml со мерен опсег до 1000 pg/ml. Референтни вредности за IL-6 < 5,9 pg/ml.

3.2. Метода за одредување на концентрацијата на тумор некротизирачки фактор α (TNF- α)

Концентрацијата на тумор некротизирачки фактор α (TNF- α) се квантифицираше со имунометриски метод на Immulate 1000 , Diagnostic Products Corp. Immulate/ Immulate 1000. TNF- α е цврсто фазен, хемилуминисцентен имунометрички есеј. Тестот покажува аналитичка сензитивност од 1,7 pg/ml со мерен обсег до 1000 pg/ml. Референтна вредност за TNF- α < 8,1 pg/ml.

3.3. Метода за одредување на концентрацијата на високо сензитивно ЦРП (HsCRP)

Концентрацијата на HsCRP во серумот на пациентките беше одредувана со имунотурбидиметриска метода на 522 nm, на биохемиски анализатор Cobas Integra 400 plus, Roshe Diagnostic, Germany. Хуманиот ЦРП аглутинара со латекс партикули обложени со моноклонални против - ЦРП противтела. Преципитатот се одредува турбидиметриски 552 nm со обсег на мерење 0.1-20mg/L (0.952-190 nmol/L). Најниско ниво на детекција изнесува 0.1mg/L (0.952 nmol/L). Референтни вредности за HsCRP <5mg/ml.

3.4. Метода за одредување на концентрацијата на СА-125

Концентрацијата на тумор маркерот СА-125 во серум се квантифицираше со имунометриски есеј (Immulate 2000 HP, Diagnostic Products Corp). Истиот представува секвенционален, двостран, цврсто-фазен, ензимски хемилуминисцентен есеј. Аналитичка

сензитивност на тестот изнесува 2 pg/ml со мерен обсег до 1000 pg/ml. Референтна вредност за СА-125 < 35mIU/ml.

6. СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА

Статистичката анализа на податоците добиени од истражувањето беше направена во статистичкиот програм SPSS 23,0.

Kolmogorov-Smirnov тест беше користен за тестирање на нормалноста на дистрибуцијата на податоците.

Статистичките карактеристики на категориските варијабли се прикажани со апсолутни и релативни броеви, додека квантитативни варијабли се прикажани со просек, стандардна девијација, минимални и максимални вредности, медијална вредност и интерквартилен ранк.

Статистичката сигнификантност на интергрупните разлики беше тестирана со Chi-square test, Analysis of Variance, Kruskal-Wallis test).

Корелацијата меѓу варијаблите беше анализирана со Spearman-ов коефициент на ранк корелација.

Логистичка регресиона анализа беше користена за да се утврдат независните предиктори за појава на лесна и тешка ендометриоза.

ROC анализата беше употребена за да се одреди дискриминаторската способност на IL-6, Ca-125, hs-CRP, TNF-alfa и нивни комбинации како тестови за дијагноза на ендометриоза од лесен и тежок степен. За сите овие тестови беше конструирана ROC крива, како графички приказ за сензитивноста и специфичноста за секој можен резултат на тестот

Статистичката сигнификантност беше дефинирана на ниво на $p < 0.05$.

7. РЕЗУЛТАТИ

Во истражувањето партиципираа 138 испитанички, пациентки на репродуктивна возраст од ЈЗУ Универзитетска клиника за гинекологија и акушерство, поделени во три групи: 45 пациентки со лесна ендометриоза (стадиум I и II - ИГ1), 38 пациентки со тешка ендометриоза (стадиум III и IV - ИГ2) и 55 пациентки без ендометриоза (контролна група - КГ).

Пациентките од ИГ1, ИГ2 и КГ беа на просечна возраст од 31.9 ± 5.9 , 35.1 ± 6.5 и 32.8 ± 5.5 години, соодветно. Возраста на пациентките од трите групи не беше статистички сигнификантна ($p=0.06$). Истото е прикажано во табела бр. 1.

Табела бр. 1 Приказ на пациентките од трите групи според возраста

варијабла	калкулиран параметар	групи			p-вредност
		ИГ1	ИГ2	КГ	
возраст	mean ±SD	31.9 ± 5.9	35.1 ± 6.5	32.8 ± 5.5	F=3.1 p=0.06 n.s.

ИГ1 – едометриоза I/II степен

(Анализа на Варијанси)

ИГ2 – едометриоза III/IV степен

Пациентките со лесна ендометриоза, тешка ендометриоза и пациентките од КГ сигнификантно се разликуваа во однос на нивните серумски вредности на IL-6 ($p=0.0063$). Меѓугрупните споредби покажаа дека оваа вкупна сигнификантност се должи на сигнификантно повисоки медијални серумски концентрации на IL-6 во групата пациентки со тешка ендометриоза, споредено со пациентките од КГ (10.7 v.s. 4.98, $p=0.0048$).

Медијалните серумски концентрации на туморскиот маркер СА-125 сигнификантно се разликуваа меѓу пациентките од трите групи ($p<0.0001$). Значајно повисоки концентрации беа измерени во двете испитувани групи наспроти контролната група (44.3 и 24 v.s. 7.4, $p<0.0001$).

Нс-CRP биомаркерот презентираше сигнификантно различни серумски концентрации кај пациентите од трите групи ($p=0.0012$). Во меѓугрупните компарации како статистички сигнификантни се потврдија повисоките медијални вредности на овој биомаркер во ИГ2 наспроти КГ (2.9 v.s. 1.1, $p=0.001$).

Пациентките со лесна ендометриоза, тешка ендометриоза и пациентките од КГ сигнификантно се разликуваа во однос на нивните серумски вредности на TNF- α ($p=0.0003$). Меѓугрупните споредби покажаа дека оваа вкупна сигнификантност се должи на сигнификантно повисоки медијални серумски концентрации на TNF- α во групата пациентки со лесна ендометриоза, споредено со пациентките од КГ (6.25 v.s. 5.3, $p=0.014$), и на сигнификантно повисоки медијални серумски концентрации на TNF- α во групата пациентки со тешка ендометриоза, споредено со пациентките од КГ (6.37 v.s. 5.3, $p=0.0004$).

Овие резултати се прикажани во табела бр. 2.

Табела бр.2 Вредности на IL-6, Ca-125, hs-CRP I TNF- α во иследуваните групи пациентки, минимални, максимални вредности и медијана

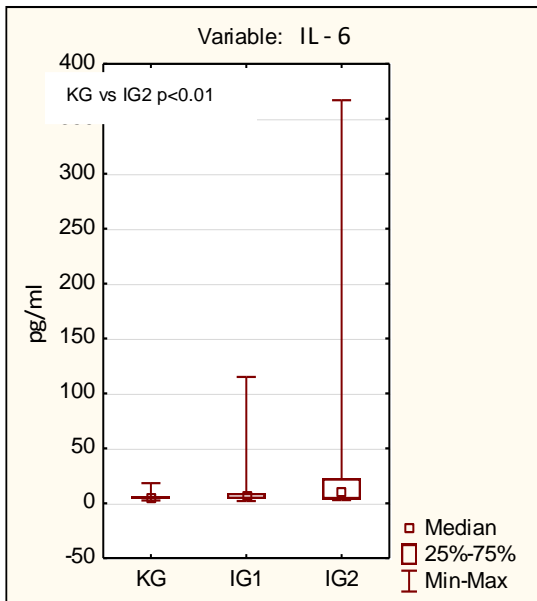
калкулиран параметар	групи		
	ИГ1	ИГ2	КГ
IL - 6			
Min-max	2-115	2.83-367	2.5 - 18.3
median (IQR)	6.23(3.99 – 9.31)	10.7(3.78 – 22.6)	4.98(3.99 – 5.9)
p-level	H=10.1 **p=0.0063 post-hoc КГ vs ИГ2 **p=0.0048		
Ca - 125			
min - max	2.53-384.4	8.5-384	1.2 -29.5
median (IQR)	24(13.8 – 33.2)	44.3(21.6 – 99.86)	7.4(5.2 – 10.7)
p-level	H=70.8 ***p=0.000 post-hoc КГ vs ИГ1***p=0.000 КГ vs ИГ2***p=0.000		
hs - CRP			
min - max	0.2-243	0.2-243	0.2-23.5
median (IQR)	2.4(0.9 – 9)	2.9(2.3 – 11.1)	1.1(0.5 – 3.3)
p-level	H=13.5 **p=0.0012 post-hoc КГ vs ИГ2 **p=0.001		
TNF- α			
min - max	4-129	4.75-238	4-25.7
median (IQR)	6.25(5.1 – 10.1)	6.37(5.59 – 9.32)	5.3(4.6 – 6.25)
p-level	H=16.3 ***p=0.0003 post-hoc КГ vs ИГ1 *p=0.014 КГ vs ИГ2 ***p=0.0004		

ИГ1 – едометриоза I/II степен

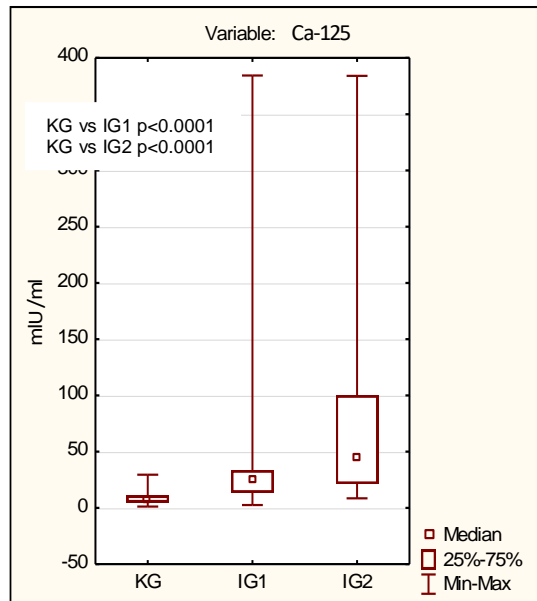
ИГ2 – едометриоза III/IV степен

P (Kruskal-Wallis); post hoc Mann-Whitney U test

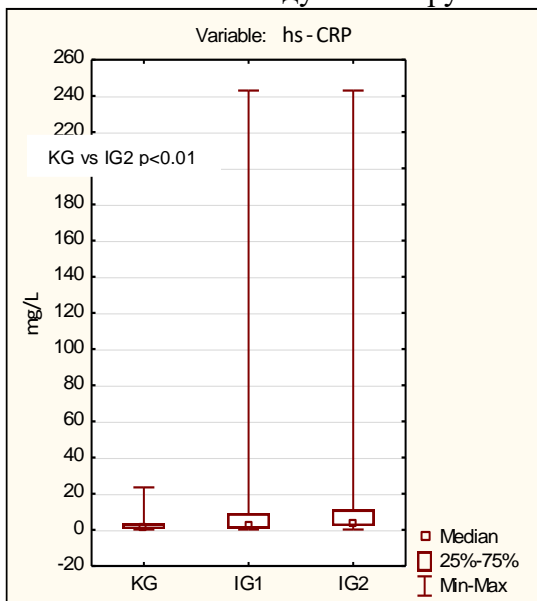
*p<0.05 **p<0.01 ***p<0.0001



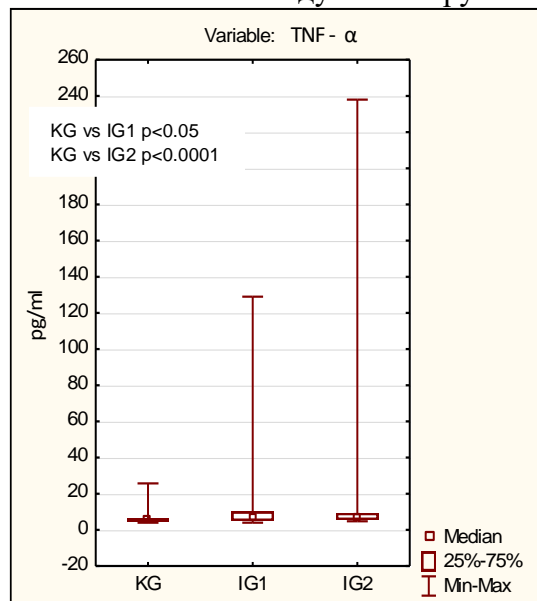
Слика бр. 1 Вредности на IL-6 во иследуваните групи



Слика бр. 2 Вредности на СА-125 во иследуваните групи



Слика бр. 3 Вредности на hs-CRP во иследуваните групи



Слика бр. 4 Вредности на TNF- α во иследуваните групи

Зголемени серумски вредности на IL-6 сигнификантно почесто беа регистрирани кај пациентките со лесна ендометриоза споредено со КГ (51.1% vs 23.6%, p=0.0044) и кај пациентките со тешка ендометриоза споредено со КГ (63.2% vs 23.6%, p=0.0001). Ова е прикажано на слика бр. 1.

Во КГ немаше пациентки со зголемени серумски концентрации на СА-125. Во ИГ1 и ИГ2, 24.4% и 52.6% пациентки соодветно имаа покачен СА-125. Сите меѓугрупни споредби во зачестеноста на зголемени вредности на СА-125 во серум беа статистички сигнификантни ($p=0.0001$, $p<0.0001$, $p=0.008$). Ова е прикажано на слика бр. 2.

hs-CRP презентираше зголемени серумски вредности кај 47.4% пациентки со тешка ендометриоза, 31,1% со лесна ендометриоза, и 18.2% пациентки без ендометриоза. Статистичка сигнификантна разлика во зачестеност на покачен hs-CRP беше потврдена само меѓу ИГ2 и КГ ($p=0.0026$). Ова е прикажано на слика. бр. 3.

TNF- α биомаркерот беше покачен во серумот на 26.3% пациентки со тешка ендометриоза, 33.3% со лесна ендометриоза, и 18.2% пациентки од КГ, со сигнификантна разлика меѓу ИГ2 наспроти КГ ($p=0.026$), и ИГ1 наспроти КГ ($p=0.0026$). Ова е прикажано на слика бр. 4.

Табела бр. 3 Приказ на корелацијата на иследуваните параметри (IL-6, СА-125, hs-CRP и TNF- α) меѓу трите иследувани групи пациентки

зголемени вредности	n	групи			p-level
		ИГ1 n (%)	ИГ2 n (%)	КГ n (%)	
IL - 6					
не	78	22 (48.89)	14 (36.84)	42 (76.36)	КГ vs ИГ1 ** $p=0.0044$ КГ vs ИГ2 *** $p=0.0001$ ИГ1 vs ИГ2 $p=0.27$
да	60	23 (51.11)	24 (63.16)	13 (23.64)	
Ca-125					
не	107	34 (75.56)	18 (47.37)	55 (100)	КГ vs ИГ1 ** $p=0.0001$ КГ vs ИГ2 *** $p=0.00000$ ИГ1 vs ИГ2 ** $p=0.008$
да	31	11 (24.44)	20 (52.63)	0	
hs - CRP					
не	96	31 (68.89)	20 (52.63)	45 (81.82)	КГ vs ИГ1 $p=0.13$ КГ vs ИГ2 ** $p=0.0026$ ИГ1 vs ИГ2 $p=0.13$
да	42	14 (31.11)	18 (47.37)	10 (18.18)	
TNF - α					
не	108	30 (66.67)	28 (73.68)	50 (90.91)	КГ vs ИГ1 ** $p=0.0026$ КГ vs ИГ2 * $p=0.026$ ИГ1 vs ИГ2 $p=0.49$
да	30	15 (33.33)	10 (26.32)	5 (9.09)	

ИГ1 – едометриозаI/IIстепен
ИГ2 – едометриозаIII/IV степен

p(Chi-square)
* $p<0.05$ ** $p<0.01$ *** $p<0.0001$

Корелационите анализи покажаа во групата пациентки со лесна ендометриоза сигнификантна корелација помеѓу IL-6 и hs-CRP, и помеѓу IL-6 и TNF- α ($p=0.003$ и $p=0.025$, соодветно). И двете корелации беа позитивни, односно директни, кај пациентките со лесна ендометриоза со зголемување на серумскиот IL-6 се зголемуваат и серумските

вредности на hs-CRP и на TNF- α (R=0.436 и R=0.334,соодветно). Ова е прикажано на табела бр. 3.

Пациентките со тешка ендометриоза покажуваат позитивна сигнификантна корелација помеѓу IL-6 и hs-CRP (R=0.486, p=0.002). Зголемувањето на серумскиот IL-6 е поврзано со зголемување на серумскиот hs-CRP, и обратното.

Табела бр. 4 Приказ на униваријантна и мултиваријантна логистичка регресиона анализа

Ca-125	hs - CRP	TNF - α
0.188(p=0.216)	0.436(**p=0.003)	0.334(*p=0.025)
	0.171(p=0.261)	0.166(p=0.274)
		0.221(p=0.144)
-0.035(0.834)	0.486(**p=0.002)	0.268(p=0.104)
	0.191(p=0.525)	0.254(p=0.124)
		-0.046(p=0.785)

Spearman R *p<0.05 **p<0.01

Корелациони анализи на иследуваните параметри меѓу контролната група пациентки наспрема ИГ1 групата (пациентки со ендометриоза од лесен степен)

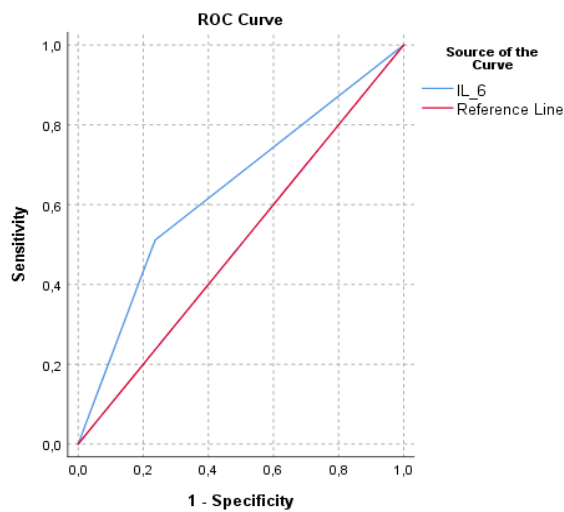
Во табела бр. 4 прикажани се резултатите од униваријантната и мултиваријантна логистичка регресиона анализа, за да се утврдат варијаблите сигнификантно асоцирани со ендометриоза од прв и втор степен. Варијаблите кои во униваријантната анализа се покажаа како сигнификантни. CA-125 и TNF-alfa беа ставени во модел на мултиваријантна анализа, која серумскиот CA-125 го детерминираше како маркер сигнификантно асоциран со појава на лесна ендометриоза. Зголемувањето на серумската концентрација на CA-125 за 1mlU/ml ја зголемува шансата за ендометриоза за 20.2% (OR=1.202 95% CI 1.108-1.305).

Табела бр. 5 Бинарна логистичка регресиона анализа за лесна ендометриоза

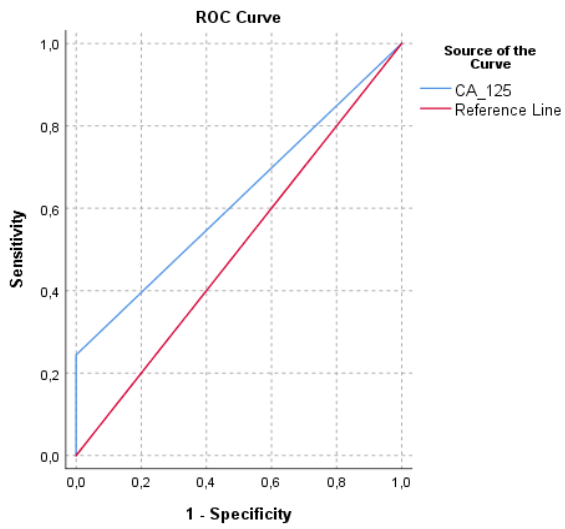
	Униваријантна				Мултиваријантна			
	p	Exp (B)	95% CI for Exp (B)		p	Exp (B)	95% CI for Exp (B)	
			Lower	Upper			Lower	Upper
возраст	0.470	0.974	0.908	1.046				
IL-6	0.082	1.080	0.990	1.178				
CA-125	0.000	1.208	1.117	1.307	0.000	1.202	1.108	1.305
hsCRP	0.087	1.072	0.990	1.161				
TNF- α	0.031	1.154	1.013	1.314	0.117	1.121	0.972	1.292

Перформансите на IL-6, CA-125, hsCRP и TNF- α како дијагностички тестови за ендометриоза од прв и втор степен се прикажани во табела бр. 5.

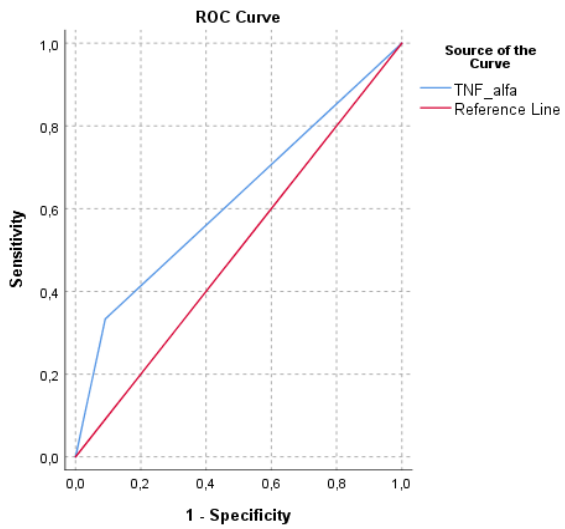
Добиените резултати покажуваат дека врз основа на големината на површината под ROC кривата (AUC), IL-6, CA-125 и TNF- α како поединечни маркери претставуваат тестови со доволна дискриминаторска способност во дијагностицирање на пациентки со ендометриоза од лесен степен: IL-6 (AUC=0.637), CA-125 (AUC=0.622), TNF- α (AUC=0.621). Ова е прикажано на слика бр. 5, 6 и 7.



Слика бр.5. ROC крива за IL-6 како тест за дијагноза на лесна ендометриоза

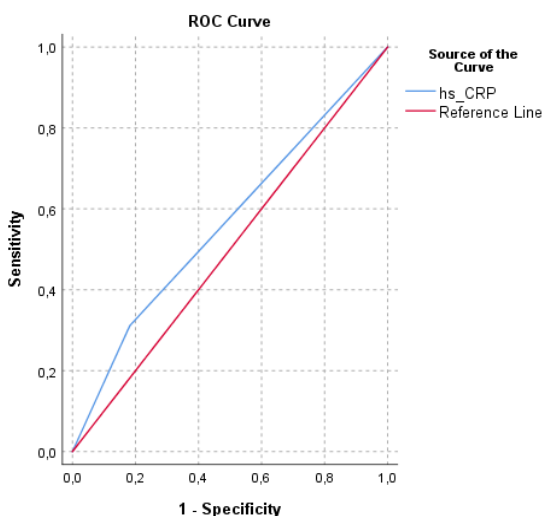


Слика бр. 6 ROC крива за CA-125 како тест за дијагноза на лесна ендометриоза



Слика бр. 7 ROC крива за TNF-alfa како тест за дијагноза на лесна ендометриоза

Наспроти овие биомаркери, hsCRP како поединечен маркер не е корисен во разграничување на пациентки со лесна ендометриоза и здрави пациентки (AUC=0.565) . Ова е прикажано на слика бр. 8.



Слика бр. 8 ROC крива за hs-CRP како тест за дијагноза на лесна ендометриоза

Сензитивноста и специфичноста на иследуваните параметри (IL-6, CA-125, hs-CRP и TNF- α) кај иследуваните пациентки е прикажана на табела бр. 6.

При cut-off од 5.9pg/ml, сензитивноста на IL-6 е 51.1%,специфичноста е 76.4%.

При cut-off од 35IU/ml, сензитивноста на CA-125 е 24.4%,специфичноста е 100%.

При cut-off од 5mg/l, сензитивноста на hsCRP е 31.1%,специфичноста е 81.8%.

При cut-off од 8.1pg/ml, сензитивноста на TNF alfa е 33.3%,специфичноста е 90.9%.

Комбинацијата на сите 4 маркери презентира поголема површина под ROC кривата (AUC=0.760), и сугерира на заклучок дека овој комбиниран модел претставува тест со добра диференцирачка способност на здрави пациентки и пациентки со лесна ендометриоза. Сензитивноста на овој комбиниран модел е 48.9%, специфичноста е 90.9%.

Табела бр. 6 Приказ на сензитивноста и специфичноста на иследуваните параметри (IL-6, CA-125, hs-CRP и TNF- α) кај иследуваните групи пациентки

варијабла	перформанси		
	AUC (95% CI)	Сензитивност (95% CI)	Специфичност (95% CI)
IL - 6	0.637 (0.527 – 0.748)	51.11%	76.36%
CA - 125	0.622 (0.509 – 0.735)	24.44%	100.00%
hs - CRP	0.565 (0.451 – 0.679)	31.11%	81.82%
TNF - α	0.621 (0.509 – 0.734)	33.33%	90.91%
комбинации			
IL - 6 + CA - 125	0.733 (0.631-0.834)	64.4	76.4
IL - 6 + CRP	0.646(0.536-0.756)	51.1	76.4
IL - 6 + TNF - α	0.687(0.580-0.793)	62.2	69.1
CA - 125 + CRP	0.676(0.567-0.785)	48.9	81.8
CA - 125 + TNF - α	0.710(0.604-0.816)	48.9	90.9
hs - CRP + TNF - α	0.654(0.543-0.764)	33.3	90.9
IL - 6 + CA - 125+ CRP	0.744(0.645-0.843)	64.4	76.4
IL - 6 + CA - 125 + TNF - α	0.752(0.652-0.852)	48.9	90.9
IL - 6 + CRP+ TNF-α	0.681(0.573-0.789)	62.2	69.1
CA - 125 + CRP+ TNF - α	0.734(0.632-0.837)	48.9	90.9
IL - 6 + CA - 125+ CRP + TNF - α	0.760(0.662-0.858)	48.9	90.9

Корелациона анализа за иследуваните параметри меѓу КГ пациентки и ИГ2 групата (пациентки со ендометриоза од тежок степен)

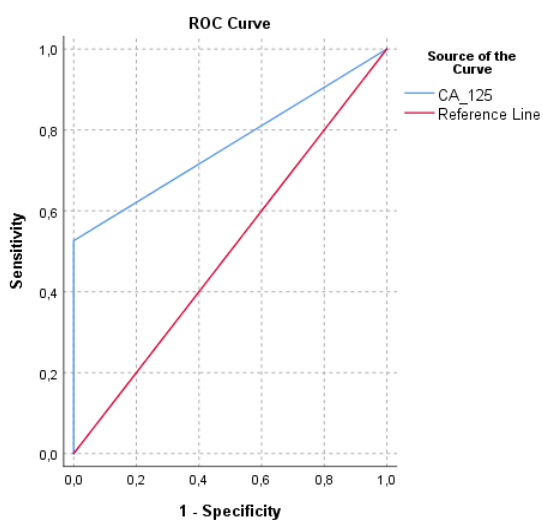
Во табела бр. 7 прикажани се резултатите од униваријантната и мултиваријантна логистичка регресиона анализа, за да се утврдат варијаблите сигнификантно асоцирани со ендометриоза од трет и четврт степен. Варијаблите кои во униваријантната анализа се покажаа како сигнификантни (IL-6, CA-125 и hsCRP), беа ставени во модел на мултиваријантна анализа, која серумскиот IL-6 и CA-125 ги детерминираше како маркери сигнификантно асоцирани со појава на тешка ендометриоза. Зголемувањето на серумската концентрација на IL-6 за 1pg/ml ја зголемува шансата за тешка ендометриоза за 18.8% (OR=1.188 95% CI 1.076-1.311), додека зголемувањето на CA-125 за 1mIU/ml ја зголемува шансата за ендометриоза за 24.8% (OR=1.248 95% CI 1.015-1.534).

Табела бр.7 Бинарна логистичка регресиона анализа за тешка ендометриоза

	Униваријантна				Мултиваријантна			
	p	Exp (B)	95% CI for Exp (B)		p	Exp (B)	95% CI for Exp (B)	
			Lower	Upper			Lower	Upper
возраст	0.070	1.068	0.995	1.146				
IL-6	0.002	1.165	1.057	1.285	0.035	1.188	1.076	1.311
CA -125	0.000	1.221	1.116	1.336	0.001	1.248	1.015	1.534
hsCRP	0.013	1.107	1.022	1.199	0.711	0.977	0.863	1.106
TNF- α	0.053	1.135	0.998	1.291				

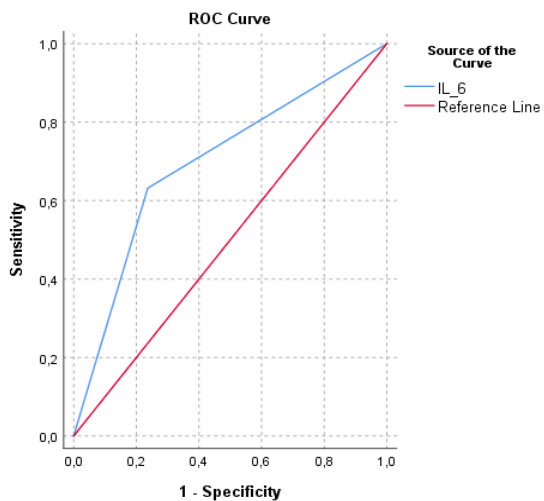
Перформансите на IL-6, CA- 125, hsCRP и TNF- α како дијагностички тестови за ендометриоза од трет и четврт степен се прикажани во табела бр.8.

Добиените резултати покажуваат дека врз основа на големината на површината под ROC кривата, CA-125 како поединечен маркер има најдобра диференцирачка способност во дијагностицирање на пациентки со ендометриоза од тежок степен, со AUC=0.763, и сензитивност и специфичност од 52,6% и 100%, соодветно, при cut-off од 35 mIU/ml. Ова е прикажано на слика бр. 9.

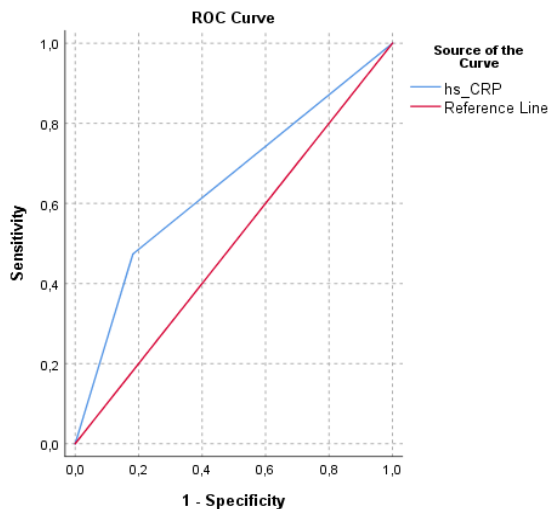


Слика бр. 9 ROC крива за CA-125 како тест за дијагноза на тешка ендометриоза

IL-6 и hsCRP како поединечни тестови имаат задоволителна дискриминаторска способност: AUC=0.698, сензитивност од 63.2% и специфичност од 76.4% при cut-off од 5.9 pg/ml, и AUC=0.646 сензитивност од 47.4% и специфичност од 81.8%, при cut-off од 5 mg/ml, соодветно за IL-6 и hsCRP. Ова е прикажано на слика бр. 10 и слика бр. 11.

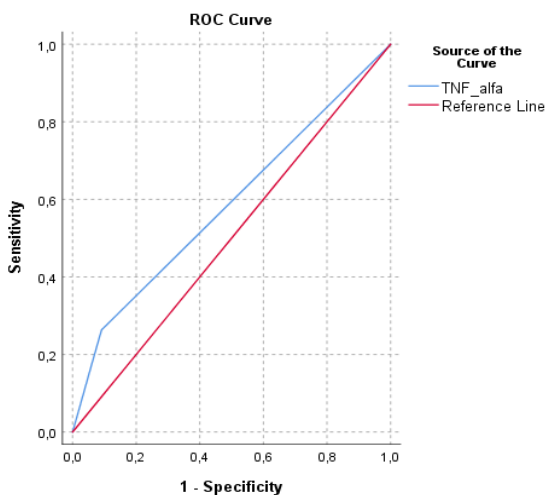


Слика бр. 10 ROC крива за IL-6 како тест за дијагноза на тешка ендометриоза



Слика бр. 11 ROC крива за hs-CRP како тест за дијагноза на тешка ендометриоза

TNF- α како поединечен маркер не е корисен во разграничување на пациентки со тешка ендометриоза и здрави пациентки (AUC=0.586), со сензитивност од 26.3% и специфичност од 90.9%, при cut-off од 8.1 pg/ml. Ова е прикажано на слика бр. 12.



Слика бр. 12 ROC крива за TNF-alfa како тест за дијагноза на тешка ендометриоза

Перформансите на IL-6, CA-125, hsCRP и TNF- α како дијагностички тестови за ендометриоза од трет и четврт степен се прикажани во табела бр. 8. Од табелата се гледа дека комбинацијата на сите 4 маркери се карактеризира со најголема површина под ROC кривата (AUC=0.906), односно, овој комбиниран модел претставува тест со најдобра диференцирачка способност на здрави пациентки и пациентки со тешка ендометриоза. Сензитивноста на овој комбиниран модел е 68.4%, специфичноста е 98.2%.

Табела бр. 8 Перформансите на IL-6, CA- 125, hsCRP и TNF- α како дијагностички тестови за ендометриоза од трет и четврт степен

варијабла	перформански		
	AUC 95% Confidence Interval	Сензитивност 95% Confidence Interval	Специфичност 95% Confidence Interval
IL - 6	0.698(0.586-0.809)	63.2%	76.4%
CA - 125	0.763(0.655-0.871)	52.6%	100%
hs - CRP	0.646(0.529-0.763)	47.4%	81.8%
TNF - α	0.586(0.466-0.707)	26.3%	90.9%
комбинации			
IL - 6 + CA - 125	0.891(0.820-0.963)	89.5%	76.4%
IL - 6 + CRP	0.703(0.591-0.816)	63.2%	76.4%
IL - 6 + TNF - α	0.723(0.615-0.832)	63.2%	76.4%
CA - 125 + CRP	0.825(0.731-0.920)	52.6%	100%
CA - 125 + TNF - α	0.821(0.723-0.918)	68.4%	90.9%
hs - CRP + TNF - α	0.697(0.586-0.809)	63.2%	76.4%
IL - 6 + CA - 125 + CRP	0.893(0.823-0.962)	89.5%	76.4%
IL - 6 + CA - 125 + TNF - α	0.903(0.832-0.974)	68.4%	98.2%
IL - 6 + CRP+ TNF - α	0.733(0.623-0.842)	63.2%	74.5%
CA - 125 + CRP+ TNF - α	0.869(0.788-0.950)	57.9%	96.4%
IL - 6 + CA - 125+ CRP + TNF - α	0.906(0.834-0.977)	68.4%	98.2%

8. ДИСКУСИЈА

Кај пациентките со тешка ендометриоза во клиничката слика доминираат карлична болка, дизменореја, инфертилитет, а ултразвучната евалуација укажува на постоење на ендометриотични цисти на јајниците и кај овие пациентките гинекологите ќе им советуваат да се направи лапароскопска екстирпација на ендометриомите, како и на евентуално присатните ендометриозни жаришта така што дијагнозата за ендометриоза ќе биде поставена брзо. Проблем се пациентките со лесна форма на ендометриоза кои во голем процент можат да бидат асимптоматски. Кај нив е важна раната дијагноза, која ќе овозможи да се отпочне со терапија за ендометриозата веднаш, пред да настанат потешки ирверзибилни оштетувања на гениталните органи кај жената. Кај нив примената на неинвазивни биомаркери би овозможило рано поставување на сомнение за ендометриоза и рана терапија и би се избегнале инвазивните процедури, како што е и лапароскопијата.

Во нашето иследување најдовме покачени вредности на маркери на инфламација (hs-CRP, interleukin-6, TNF- α) и туморскиот маркер СА-125 кај иследуваните групи пациентки со ендометриоза во однос на контролната група здрави пациентки, што соодејствува со резултатите на студијата на Irunge S, со соработниците и Maу K. E. со соработниците (16, 17). Кај ниедна пациентка оперирана заради ендометриоза во нашата студија немаше инфекција на оперативната рана постоперативно, а крвта за анализа беше земена предоперативно, така што оперативниот третман немаше влијание врз резултатите од студијата.

Во двете групи пациентки со ендометриоза најдовме покачени вредности на IL-6 во однос на контролната група пациентки (6,97 vs 4,98) при $p=0,0045$. Слични резултати се најдени во студијата на Kashanian M. со соработниците, кои во својата студија најдоа повисоки вредности на СА-125 и IL-6 кај пациентките со ендометриоза во однос на контролната група пациентки, но *area under curve* не покажала сигнификантна и дијагностичка вредност за овие тестови во дијагноза на ендометриозата (18). Најновите студии покажаа дека постои корелација меѓу вредностите на СА 125 и стадиумот на ендометриоза. Во студијата на Tian Z. со сор. најдено е дека сензитивноста на овој биомаркер била 63,1% кај 3 и 4 стадиум на ендометриоза наспрема 24,8% за први и втори стадиум на ендометриоза (19). Вредностите на туморскиот маркер СА-125 имаат дијагностичка вредност во дијагноза кај напреднати стадиуми на ендометриоза, како и во следење на третманот кај овие пациентки во студијата на Wu M-H, со соработниците (20), како и во студијата на Maiorana A, со соработници (21). Во студијата на Mol et al. најдено е дека туморскиот маркер СА-125 е покорисен во дијагноза на напреднат стадиум на ендометриоза (3 и 4 стадиум) во однос на први и втори стадиум на ендометриоза (22). Во студијата на Sütcü H.K, со соработниците најдени се сигнификантно покачени вредности на туморскиот маркер СА-125 кај пациентките во сите стадиуми на ендометриоза во однос на контролната група пациентки, како и кај пациентки од 3 и 4 стадиум на заболувањето во однос на контролната група пациентки ($p<0,05$). СА-125 имала сензитивност од 70% и специфичност од 79% во дискриминација меѓу пациентки од 3 и 4 стадиум на ендометриоза во однос на контролната група пациентки при cut-off вредност од 21,7U/ml (23). Во нашата студија во КГ немаше пациентки со зголемени серумски концентрации на СА-125. Во ИГ1 и ИГ2, 24.4% и 52.6% пациентки соодветно имаа покачен СА-125. Сите меѓугрупни споредби во зачестеноста на зголемени вредности на СА-125 во серум беа статистички сигнификантни ($p=0.0001$, $p<0.0001$, $p=0.008$). Врз основа на површината под ROC кривата за СА-125 во дијагноза на лесна форма на ендометриоза (стадиум 1 и 2) при cut-off од 35 mIU/ml, сензитивноста изнесува 24.4%, а специфичноста е 100%. Добиените резултати покажуваат дека врз основа на големината на површината под ROC кривата, СА-125 како поединечен маркер има најдобра диференцирачка способност во дијагностицирање на пациентки со ендометриоза од тежок

степен, со $AUC=0.763$, и сензитивност и специфичност од 52,6% и 100%, соодветно, при cut-off од 35 mIU/ml. Слични резултати се добиени во студијата на Vilibio со сор. кои нашле повисока сензитивност и специфичност на СА-125 во дијагноза на напреднат стадиум (трети и четврти стадиум) на ендометриоза (24).

Некои автори ги иследуваат серумските вредности на СА-125 кај пациентки со ендометриоза за време на третманот. Така Chen со соработниците во својата студија нашле сигнификантно намалување на серумските вредности на СА-125 по три месеци од третманот со Danazol (25).

IL-6 претставува плеотропен цитокин, кој го произведуваат низа клеточни типови како: моноцити, лимфоцити, фибробласти, ендотелни клетки и кератиноцити. Исто така, IL-6 се произведува во еутопичниот и ектопичниот ендометриум. IL-6 е медијатор во активна фаза на инфламација и ангиогенезата. Според студијата на Martinez со соработниците, најдени се сигнификантно покачени вредности на IL-6 кај пациентки во прв и втор стадиум на ендометриоза, што овозможува да се разликуваат првиот и вториот стадиум од третиот и четвртиот стадиум на ендометриоза (26). Bedaiwy со соработниците во својата студија утврдиле дека серумските вредности на IL-6 можат да се употребат за дискриминација на пациентки со и без ендометриоза. Тие нашле сензитивност од 90% и специфичност од 67% за IL-6 во дијагноза на ендометриозата, при cut-off вредност од 2 pg/ml (27). Во нашата студија најдовме сигнификантно покачени вредности на IL-6 кај пациентките со ендометриоза во однос на контролната група (56,6% vs 23,6%, $p=0,00013$). За IL-6 најдовме сензитивност од 56,63% и специфичност од 76,36% во предикција на ендометриозата. Зголемени серумски вредности на IL-6 сигнификантно почесто беа регистрирани кај пациентките со лесна ендометриоза споредено со КГ (51.1% vs 23.6%, $p=0.0044$) и кај пациентките со тешка ендометриоза споредено со КГ (63.2% vs 23.6%, $p=0.0001$). Во групата пациентки со лесна ендометриоза најдовме сигнификантна корелација помеѓу IL-6 и hs-CRP, и помеѓу IL-6 и TNF- α ($p=0.003$) и $p=0.025$, соодветно. И двете корелации беа позитивни, односно директни, кај пациентките со лесна ендометриоза со зголемување на серумскиот IL-6 се зголемуваат и серумските вредности на hs-CRP и на TNF- α ($R=0.436$ и $R=0.334$, соодветно).

Кај пациентките со тешка ендометриоза најдовме позитивна сигнификантна корелација помеѓу IL-6 и hs-CRP ($R=0.486$, $p=0.002$). Зголемувањето на серумскиот IL-6 е поврзано со зголемување на серумскиот hs-CRP, и обратното. Врз основа на големината на површината под ROC кривата кај пациентките со лесна ендометриоза при cut-off од 5.9 pg/ml, сензитивноста на IL-6 е 51.1%, специфичноста е 76.4%. Врз основа на големината на површината под ROC кривата, IL-6 има задоволителна дискриминаторна способност за тешка ендометриоза, со $AUC=0.698$, сензитивност од 63.2% и специфичност од 76.4% при cut-off вредност од 5.9 pg/ml. Тоа значи дека одредувањето на серумските концентрации

на IL-6 може да се искористи како поединечен биомаркер за разграничување на пациентките со ендометриоза (лесна и тешка форма) од контролната група здрави пациентки. Во студијата на Mihalyi со сор. најдени се повисоки вредности на IL-6 кај пациентки со лесна форма на ендометриоза (стадиум 1 и 2) и кај пациентки со тешка форма на ендометриоза (стадиум 3 и 4) (28).

Hs-CRP претставува маркер на инфламаторна реакција и може да се користи како неинвазивен биомаркер на ендометриозата. Во нашата студија Hs-CRP биомаркерот презентираше сигнификантно различни серумски концентрации кај пациентите од трите групи ($p=0.0012$). Hs-CRP презентираше зголемени серумски вредности кај 47.4% пациентки со тешка ендометриоза, 31,1% со лесна ендометриоза, и 18.2% пациентки без ендометриоза. Во меѓугрупните компарации како статистички сигнификантни се потврдија повисоките медијални вредности на овој биомаркер во ИГ2 наспроти КГ (2.9vs 1.1, $p=0.001$). Нашите иследувања покажаа дека hsCRP како поединечен маркер не е корисен во разграничување на пациентки со лесна ендометриоза и здрави пациентки (AUC=0.565). При cut-off од 5mg/ml, сензитивноста на hsCRP е 31.1%, специфичноста е 81.8%. Како поединечен маркер hsCRP е корисен во поставување дијагноза кај тешка ендометриоза (стадиум 3 и 4), со AUC=0.646 сензитивност од 47.4% и специфичност од 81.8%, при cut-off од 5mg/l. Во својата студија Abrao со соработниците изнесуваат покачени вредности на hs-CRP кај пациентки со тешка форма на ендометриоза (трети и четврти стадиум) (29).

Пациентките со лесна ендометриоза, тешка ендометриоза и пациентките од КГ сигнификантно се разликуваа во однос на нивните серумски вредности на TNF- α ($p=0.0003$), со сигнификантно повисоки медијални серумски концентрации на TNF- α во групата пациентки со лесна ендометриоза, споредено со пациентките од КГ (6.25vs 5.3, $p=0.014$), и на сигнификантно повисоки медијални серумски концентрации на TNF- α во групата пациентки со тешка ендометриоза, споредено со пациентките од КГ (6.37vs 5.3, $p=0.0004$). TNF- α биомаркерот беше покачен во серумот на 26.3% пациентки со тешка ендометриоза, 33.3% со лесна ендометриоза, и 18.2% пациентки од КГ, со сигнификантна разлика меѓу ИГ 2 наспроти КГ ($p=0.026$), и ИГ1 наспроти КГ ($p=0.0026$). Корелационите анализи покажаа во групата пациентки со лесна ендометриоза сигнификантна корелација помеѓу IL-6 и hs-CRP, и помеѓу IL-6 и TNF- α ($p=0.003$) и $p=0.025$, соодветно. И двете корелации беа позитивни, односно директни, кај пациентките со лесна ендометриоза со зголемување на серумскиот IL-6 се зголемуваат и серумските вредности на hs-CRP и на TNF- α ($R=0.436$ и $R=0.334$, соодветно). Како поединечен маркер TNF- α може да се користи за дијагноза на лесна форма на ендометриоза, при cut-off од 8.1 pg/ml, сензитивноста на TNF alfa е 33.3%, специфичноста е 90.9%. TNF-alfa како поединечен маркер не е корисен во разграничување на пациентки со тешка ендометриоза и здрави

пациентки (AUC=0.586), со сензитивност од 26.3% и специфичност од 90.9%, при cut-off од 8.1 pg/ml.

Иследувањата покажаа дека комбинацијата на сите 4 маркери презентира поголема површина под ROC кривата (AUC=0.760), и сугерира на заклучок дека овој комбиниран модел претставува тест со добра диференцирачка способност на здрави пациентки и пациентки со лесна ендометриоза. Сензитивноста на овој комбиниран модел е 48.9%, специфичноста е 90.9%.

Комбинацијата на сите 4 маркери се карактеризира со најголема површина под ROC кривата (AUC=0.906), односно, овој комбиниран модел претставува тест со најдобра диференцирачка способност на здрави пациентки и пациентки со тешка ендометриоза. Сензитивноста на овој комбиниран модел е 68.4%, специфичноста е 98.2%.

Слични резултати се најдени во студијата на Mihalyi со соработниците, кои ги одредувале серумските концентрации на IL-6, IL-8, TNF- α , hsCRP, CA 19-9 I CA-125 и утврдиле дека овој панел од шест селектирани биомаркери овозможува дијагноза на лесните и тешките форми на ендометриоза со висока сензитивност и клинички прифатлива специфичност (28). Тие добиле сензитивност од 100% и специфичност од 84% во дијагноза на средната и тешката форма на ендометриоза, додека сензитивноста на овој панел биомаркери за дијагноза на лесните форми на ендометриоза (први и втори стадиум) изнесувала 87% и специфичност од 71% во секреторната фаза на менструалниот циклус.

9. ЗАКЛУЧОЦИ

Во овој проект беше евалуирана употребата на неколку биомаркери во дијагноза на ендометриозата (CA-125, IL-6, hsCRP и TNF- α). Иследувањата во нашата студија покажаа статистички сигнификантно повисоки концентрации на CA-125, IL-6 и TNF- α и hsCRP кај пациентките со ендометриоза во однос на контролната група пациентки. Статистичката анализа покажа покачени серумски концентрации на IL-6 и hsCRP кај иследуваната група пациентки со тешка форма на ендометриоза во однос на контролната група пациентки. Добиените резултати покажуваат дека врз основа на големината на површината под ROC кривата (AUC), IL-6, CA-125 и TNF- α како поединечни маркери претставуваат тестови со доволна дискриминаторска способност во дијагностицирање на пациентки со ендометриоза од лесен степен. Од друга страна, hsCRP како поединечен маркер не е корисен во разграничување на пациентки со лесна ендометриоза од здрави пациентки. Добиените резултати покажуваат дека врз основа на големината на површината под ROC кривата, CA-125 како поединечен маркер има најдобра диференцирачка способност во дијагностицирање на пациентки со ендометриоза од тежок степен. IL-6 и hsCRP како поединечни тестови имаат задоволителна дискриминаторска способност за дијагноза на ендометриоза од трети и четврти стадиум. TNF- α како поединечен маркер не е корисен

во разграничување на пациентки со тешка ендометриоза од здрави пациентки. Комбинираниот модел претставува тест со најдобра диференцирачка способност на здрави пациентки и пациентки со лесна и тешка ендометриоза. Лимитација на нашата студија е помалиот број на иследувани пациентки во однос на другите студии. Потребно е да се најде панел комбинација на биомаркери со висока сензитивност од околу 100% кои ќе овозможат од пациентките со инфертилитет и со карлична болка да се издвојат пациентките со висок ризик за ендометриоза, што ќе овозможи да им се направи лапароскопија со ексцизија на ендометриозните жаришта и ќе доведе до подобри резултати при примена на техниките на асистирани репродукција кај овие пациентки.

10. ЛИТЕРАТУРА

1. Missmer SA, Cramer DW. The epidemiology of endometriosis. *Obste Gynecol Clin North Am* 2003; 30: 1-19.
2. Novak E, Berek JS. *Berek-Novak's gynecology*; Lippincott Williams-Wilkins; 2007.
3. Duffy JM, Arambage K, Correa FJ et al. Laparoscopic surgery for endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* (4) (2014) CD011031 DOI: 10.1002/1 465 1858.CD01 1031.pub2.
4. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997; 67: 817-21.
5. Sourial S, Tempest N, Napangama DK. Theories on the pathogenesis of endometriosis. *Int J. Reprod Med* 2014; 2014:doi: <https://doi.org/10.1155/2014/179515179515>.
6. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2012; 98(3): 511-9.
7. Lousse JC, Van Langendonck A, Defrere S, et al. Peritoneal endometriosis is an inflammatory disease. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2012; 4:23-40.
8. Malutan M. A., Drugan T, Costin N, Ciortea R, Bucuri C, Rada P.M et Mihu D. Pro-inflammatory cytokines for evaluation of inflammatory status in endometriosis. *Central European Journal of Immunology* 2015, 40 (1): 96-100.
9. Sütçü K.H, Celik T.G, Akpak K.Y, Akar E.M, Taskin Ö, Özdem S, Uzun G. The value of CA-125, CA 19-9, Interleukin-6, interleukin-8 and HSCRP in the diagnosis of endometriosis. *Acta Medica Mediterranea*, 2015, 31:793-799.
10. Ilie I, Ilie R. Cytokines and endometriosis-the role of immunological alterations. *Biotechnology, molecular biology and nanomedicine* 2013, 2: 8-19.
11. Wu MY, Ho HN. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 2003; 49: 285-296.
12. Nisenblat V, Bossuyt PM, Shaikh R, Farquhar C, Jordan V, Scheffers CS, Mol BVV, Johnson N, Hull ML. Blood biomarkers for non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane database syst rev*. 2016; (5): CD012179.
13. Amaral VF, Ferriani RA, Sa MF, et al. Positive correlation between serum and peritoneal fluid CA-125 levels in women with pelvic endometriosis. *Sao Paulo Med J* 2006; 124: 223-227.

14. Airong Shen, Shengnan Xu, Yange Ma, et al. Diagnostic value of serum CA125, Ca19-0 and CA 15-3 in endometriosis: A meta-analysis. *J International Med Research* 2015; 43(5): 599-609.
15. Capobianco A, and Rovere-Querini P. Endometriosis, a disease of the macrophage. *Frontiers in immunology* 2013; Vol. 4, Article 9. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00009
16. Irungu S, Mavrelou D, Worthington J, Blyuss O, et al. Discovery of non-invasive biomarkers for the diagnosis of endometriosis. *Clin. Proteom.* 2019; 16,14. [CrossRef] [PubMed].
17. May K.E, Conduit-Hulbert S.A, Villar J, et al. Peripheral biomarkers of endometriosis: A systematic review. *Hum. Reprod. Update* 2010; 16: 651-674 . [CrossRef] [PubMed].
18. Kashanian M, Sariri E, Vahdat M, et al. A comparison between serum levels of interleukin-6 and CA 125 in patients with endometriosis and normal women. *Med J Islam Repub Iran* 2015; 29: 280.
19. Tian Z, Chang X.H., Zhao Y., et al. Current biomarkers for the detection of endometriosis. *Chin. Med. J.* 2020;133:2346-2352. PubMed.
20. Wu M-H, Hsiao K-Y and Tsai Sh-J. Endometriosis and possible inflammation markers. *Gynecology and Minimally Invasive Therapy* 4 (2015): 61-67.
21. Maiorana A, Cicerone C, Niceta M, et al. Evaluation of serum CA 125 levels in patients with pelvic pain related to endometriosis. *Int J Biol Markers.* 2007; 22: 200-202.
22. Mol B, Bayram N, Lijmer J, et al. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1998; 7: 1101-8.
23. Sütçü H.K, Çelik G.I.T, Akrak Y.K, et al. The value of CA-125, CA 19-9, interleukin-8 and HSCRP in the diagnosis of endometriosis. *Acta Medica Mediterranea*, 2015; 31: 793.
24. Bilibio JP, Souza CA, Rodini GP, et al. Serum prolactin and CA 125 levels as biomarkers of peritoneal endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2014;78:45-52.
25. Chen F, Soong Y, Lee N, et al. The use of serum CA-125 as a marker for endometriosis in patients with dysmenorrhoea for monitoring therapy and recurrence of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998; 77: 665-70.
26. Martinez S, Garrido N, Coperias JL, et al. Serum interleukin-6 levels are elevated in women with minimal-mild endometriosis. *Hum Reprod* 2007; 22: 836-42.
27. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 2002; 17: 426-31.
28. Mihalyi A, Gevaert O, Kyama CM, et al. Non-invasive diagnosis of based on a combined analysis of six plasma biomarkers. *Hum Reprod* 2010; 25: 654-64.
29. Abrao MS, Podgaec S, Filho BM, et al. The use of biochemical markers in the diagnosis of pelvic endometriosis. *Hum Reprod* 1997; 12: 2523-7.