

**ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ГИСТОЛОГИЧЕСКИМ И
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИМ МЕТОДАМИ ПРИ УСТАНОВЛЕНИИ
ДИАГНОЗА ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ РОС-
АНАЛИЗ.**

Эллиниди В.Н.¹, Хромов-Борисов Н.Н.², Лямина А.В.¹, Суворова И.Ю.¹, Феоктистов А.А.³,
Алексанин С.С.¹

*¹ФГБУ Всероссийский Центр Экстренной и Радиационной Медицины им. А.М.
Никифорова МЧС России*

194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 4/2

телефон: +7 (812) 702-63-45

e-mail: medicine@nrcerm.ru

*²ФГБУ «Национальный Медицинский Исследовательский Центр им. В.А. Алмазова»
Министерства Здравоохранения Российской Федерации*

197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

телефон: +7 (812) 702-37-16

e-mail: pr@almazovcentre.ru

³Клиника «Мать и Дитя»

199106, г. Санкт-Петербург, Средний просп. Васильевского острова, 88

телефон: +7 (812) 676 30 60

Резюме: Вопрос о диагностической информативности плазматических клеток (ПК) при установлении гистологического диагноза хронического эндометрита (ХЭ) является «краеугольным камнем» многолетней дискуссии. В работе представлены результаты сравнительной оценки информативности ПК как диагностического показателя хронического воспалительного процесса, определяемого двумя методами: гистологическим (ГИСТ) и иммуногистохимическим (ИГХ). Группу исследования составили 937 женщин с бесплодием, неудачными попытками ЭКО и установленным диагнозом ХЭ. Контрольная группа представлена 103 здоровыми женщинами, обследованными по поводу мужского фактора бесплодия.

ROC-анализ показал, что основываясь только на единственном диагностическом критерии – определении плазматических клеток в эндометрии можно установить диагноз ХЭ только у 5% больных гистологическим методом (чувствительность - $Se = 45,7\%$; информативность - $LR[+] = 1,55,7^{220}$ и $LR[-] = 1,01,05^{1,07}$; прогностическую ценность - $PPV = 210,46\%$ при $Prev = 1,02,03,0\%$ и $PPV = 1659,91\%$ при $Prev = 10,020,030,0\%$) и у 68% пациентов при использовании иммуногистохимического метода (чувствительность - $Se = 65,68,71\%$; информативность - $LR[+] = 19,71^{2790}$ и $LR[-] = 2,83,13,4$; прогностическая ценность - $PV = 1759,91\%$ при $Prev = 1,02,03,0\%$; $PPV = 71,95,99\%$ при $Prev = 10,020,030,0\%$).

Низкое количественное значение ПК при хроническом эндометрите (1 клетка) не может достоверно отражать степень активности воспаления.

Таким образом, при гистологической диагностике ХЭ необходимо учитывать комплекс морфологических критериев, отражающих хроническое течение воспалительного процесса.

Ключевые слова: хронический эндометрит, плазматические клетки, CD138, чувствительность, специфичность.

DIAGNOSTIC INFORMATIVENESS OF PLASMA CELL DETERMINATION BY HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL METHODS IN THE DIAGNOSIS OF CHRONIC ENDOMETRITIS: COMPARATIVE ROC-ANALYSIS.

Ellinidi V.N.¹, Khromov-Borisov N.N.², Liamina A.V.¹, Suvorova I.Yu.¹, Feoktistov A.A.³, Aleksanin S.S.¹

¹*The Federal State Budgetary Institute "The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine"*

194044, Saint-Petersburg, Akademika Lebedeva str.4/2

telephone: +7 (812) 702-63-45

email: medicine@nrcerm.ru

²*The Federal State Budgetary Institute "National Medical Research Center named after V. A. Almazov" of Ministry of Health of the Russian Federation*

19734, Saint-Petersburg, Akkuratova st. 2

telephone: +7 (812) 702-37-16

e-mail: pr@almazovcentre.ru

Abstract: The question of diagnostic informativeness of plasma cells (PC) in establishing the histological diagnosis of chronic endometritis (CE) is the "cornerstone" of many years of discussion. This paper presents the results of a comparative evaluation of the informativeness of the PC as a diagnostic indicator determined by two methods: histological (Hist) and immunohistochemical (IGH). The study group consisted of 937 women with infertility, failed IVF attempts and established diagnosis of CE. The control group consisted of 103 healthy women who were examined for male infertility factor. ROC-analysis showed that based on only one diagnostic criterion - the determination of plasma cells in the endometrium, a diagnosis of CE can be established only in 5% of patients by histological method (sensitivity -Se = 45.7%), informative value - likelihood ratio $LR[+] = 1.55.7$ and $LR[-] = 1.01.05$ and low prognostic value with positive result (PPV = 210.46% with Prev = 1.02.03.0% PPV = 1659.91% and with Prev = 10.020.030.0%) and 68% of patients by immunohistochemical method (sensitivity -Se = 65.68%), informativity - $LR[+] = 19.71$ and $LR[-] = 2.83.1$ and high prognostic value -PPV= 1759.91% at Prev = 1.02.03.0%; PPV= 7195.99% at Prev = 10.020.030.0%).

The low quantitative value of PC in chronic endometritis (1 cell) cannot reliably reflect the degree of inflammation activity. Thus, the histological diagnosis of CE should take into account a complex of morphological criteria that reflect the chronic inflammation.

Key words: chronic endometritis, plasma cells, CD138, sensitivity, specificity

Введение

Хронический эндометрит (ХЭ) – особый тип хронического воспаления слизистой матки с асимптомным клиническим течением, для диагностики которого, ведущим методом остается гистологический метод. Гистологический диагноз хронического эндометрита основывается на совокупности диагностических критериев, отражающих хроническое течение воспалительного процесса, таких как - фиброз стромы, склероз сосудов, воспалительной инфильтрации лимфоцитами и наличием плазматических клеток (ПК). Специфичное строение ПК позволяет визуализировать их при микроскопическом исследовании среди лимфоцитов и тем самым подтверждать наличие гуморального

иммунного ответа отражающего хроническое течение воспалительного процесса. В связи с этим ПК рассматривают как наиболее значимый диагностический критерий ХЭ[1,2,3].

Распространенность и диагностика ХЭ, основанная на идентификации ПК при рутинном гистологическом исследовании, низкая (от 3 до 30%) [4,5], что обусловлено минимальным их количеством и особым лимфоцитоподобным строением стромы эндометрия, затрудняющим их выявление. Морфологическая диагностика ХЭ повышается при использовании высокоспецифичного иммуногистохимического метода, позволяющего выявлять ПК с помощью специфических антител к ним -CD138[6, 7,8].

Цель исследования

Оценить диагностическую информативность ПК – как показателя хронического эндометрита при установлении диагноза гистологическим и иммуногистохимическим методами исследования.

Материалы и методы

Группу исследования составили 937 женщин со вторичным бесплодием и неудачными попытками ЭКО с установленным диагнозом хронического эндометрита (обследование в клинике «Мать и Дитя» за период с 2011- 2017гг) в возрасте от 19 до 50 лет (медиана - 34 года). Контрольную группу составили 103 здоровые женщины, обследованные по поводу мужского фактора бесплодия в возрасте от 23 до 47 лет (медиана - 33 года).

Для гистологического исследования соскобы фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, проводили через изопропиловый спирт в автомате LeicaASP200 (Германия) и заливали в парафин. Срезы толщиной 3-5мкм, окрашивали гематоксилином и эозином и заключали в бальзам.

Иммуногистохимическое исследование выполнено с использованием полимерной системы Novolink (Великобритания) и моноклональных мышиных антител CD138 (clone Syndecan-1, RTU) фирмы DAKO (Дания). Результаты иммуногистохимической реакции оценивали путем прямого подсчета окрашенных клеток под микроскопом Leica DM2000 при увеличении микроскопа x100 на 10 полей зрения препарата соскоба эндометрия.

Для статистического анализа данных был подобран арсенал программ, наиболее пригодных для решения возникающих задач. Использована программа PAST (<http://folk.uio.no/ohammer/past/>), в которой реализованы современные, наиболее надежные непараметрические критерии статистического оценивания и проверки статистической значимости наблюдаемых эффектов с применением перестановочно-рандомизационных алгоритмов бутстрепа и Монте-Карло[9]. Для оценки статистической неоднородности в

диагностических таблицах сопряженности 2×2 по точному критерию Фишера использовали интерактивный калькулятор Fisher's exact test p-value calculator, 2x2 and 2x3 (<https://www.cog-genomics.org/software/stats>).

Для точных интервальных оценок долей использовали программу LePAC (<http://lmrs.univ-rouen.fr/Persopage/Lecoutre/PAC.htm>). Точные доверительные интервалы для параметров полиномиального распределения вычисляли с помощью лицензионной копии программы StatXact-8 (<http://www.cytel.com/software/statxact>).

При проведении ROC-анализа и интерпретации результатов руководствовались стандартом ГОСТР 53022.3-2008 [10], рекомендациями Тишков и соавт., 2013[11], использовали интерактивную программу MetaboAnalyst[12] и экселевскую электронную таблицу ROCanalysis.xls[13]. Для точечных и интервальных оценок, основных показателей информативности проверяемого диагностического теста, таких как чувствительность (Se), специфичность (Sp), отношения правдоподобий для положительных ($LR[+]$) и отрицательных ($LR[-]$) результатов теста и соответствующих предсказательностей (PPV и NPV) использовали экселевскую программу DiagStat.xls (Хромов-Борисов Н.Н.). Для интервальных статистических оценок использовали компактную и наглядную форму их представления, при которой нижняя и верхняя границы доверительных интервалов указываются слева и справа от точечной оценки в виде подстрочных индексов [14].

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании эндометрия двумя методами – гистологическим (ГИСТ) и иммуногистохимическим (ИГХ) у женщин контрольной группы плазматические клетки (ПК) не обнаружены. При ГИСТ методе и окраске гематоксилином и эозином клетки с морфологией плазматических были выявлены в эндометрии только у 5% (50 из 937) женщин исследуемой группы (табл.1). У женщин с ХЭ при ИГХ исследовании ПК с экспрессией CD138+ обнаружены в эндометрии у 68% (637) женщин, количественная оценка и результаты ROC- анализа представлены в таблице 2.

Таблица 1

Результаты гистологического исследования плазматических клеток в эндометрии у женщин с хроническим эндометритом и контрольной группы.

Результат	Группы n, (f, 95% ДИ, %)	p-значение
-----------	---------------------------	------------

обнаружения плазматических клеток в эндометрии	ХЭ	Контроль	
Положительный	50 (4 5 7 %)	0 (0,0 0,7 3,5 %)	0,0070
Отрицательный	887(93 95 96 %)	103(97 99,3 100 %)	
Всего	937(100%)	103(100%)	

Таблица 2

Результаты иммуногистохимического исследования плазматических клеток и их пороговое значение (COP) в эндометрии у женщин с хроническим эндометритом и контрольной группы.

Результаты обнаружения плазматических клеток в эндометрии	Группы <i>n, (f, 95% ДИ, %)</i>		<i>p</i> -значение	<i>Пороговое значение (COP), кл</i>
	ХЭ	Контроль		
Положительный	637 (65 68 71 %)	0 (0,0 0,7 3,5 %)	10 ⁻⁴⁷	0,70 0,75 1,0
Отрицательный	300 (29 32 35 %)	103(97 99,3 100 %)		
Всего	937 (100 %)	103 (100%)		

Результаты проведенного ROC-анализа для двух методов исследования ПК представлены на рис.1 и рис.2.

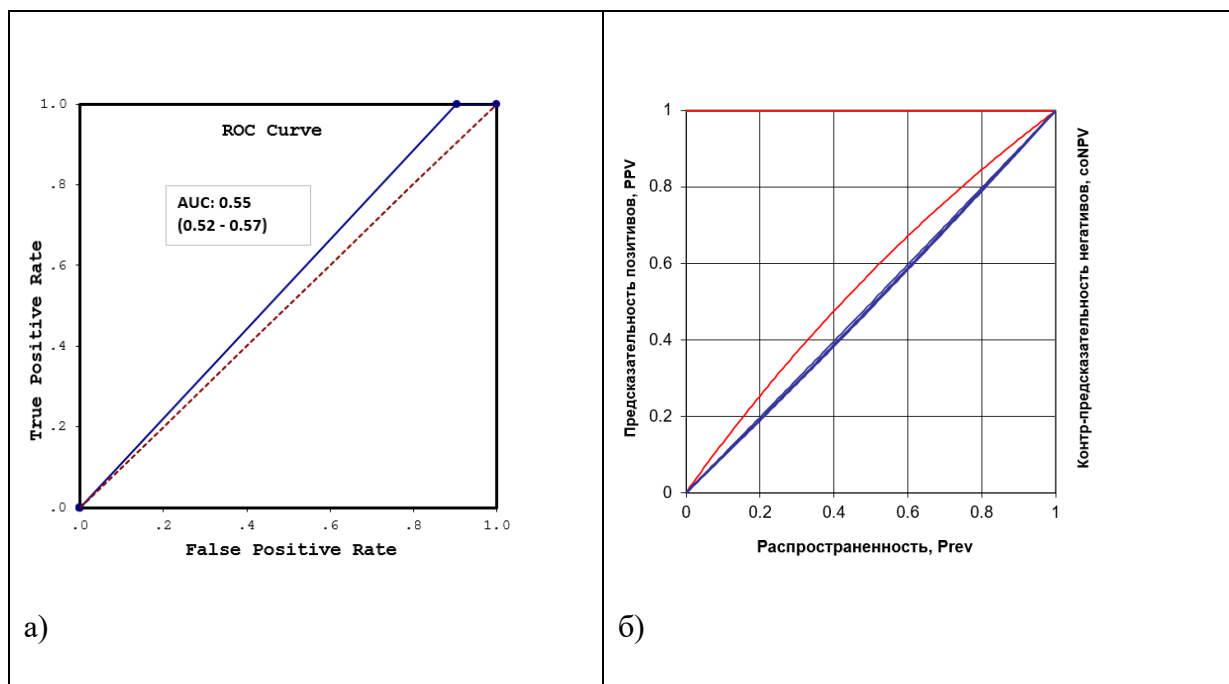


Рис.1. Результаты ROC-анализа определения плазматических клеток в эндометрии у женщин с хроническим эндометритом при гистологическом методе: а) ROC-кривая и AUC (площадь под ROC-кривой) с 95%-м доверительными интервалами, б) графики прогностической ценности с 95%-ми доверительными зонами.

Примечание: на графике предсказательностей красная кривая обозначает PPV, синяя – 1 - NPV. Тонкие кривые соответствуют границам 95%-х доверительных зон.

При ГИСТ-методе выявления ПК площадь под ROC-кривой (AUC) составила $AUC = 0,52 \ 0,55 \ 0,57$ (рис. 1). 95%-й ДИ от 0,52 до 0,57 и не покрывает неинформативное значение $AUC_{uninf} = 0,50$. Формально оцениваемое истинное значение AUC_{unkn} статистически значимо отличается от $AUC_{uninf} = 0,50$ ($p = 0,0070$). Несмотря на статистическую значимость, отклонение ROC-кривой от значения 0,50 практически столь незначительно, что определение ПК ГИСТ методом нельзя считать информативным для диагностики ХЭ.

При ИГХ методе определения ПК (CD138+) площадь под ROC-кривой составила $AUC = 0,83 \ 0,84 \ 0,86$ и статистически высоко значимо ($p = 10^{-47}$) отличается от неинформативного значения $AUC_{uninf} = 0,50$ и в сравнении со значением $AUC = 0,52 \ 0,55 \ 0,57$ для ГИСТ метода (рис. 2 и рис.1).

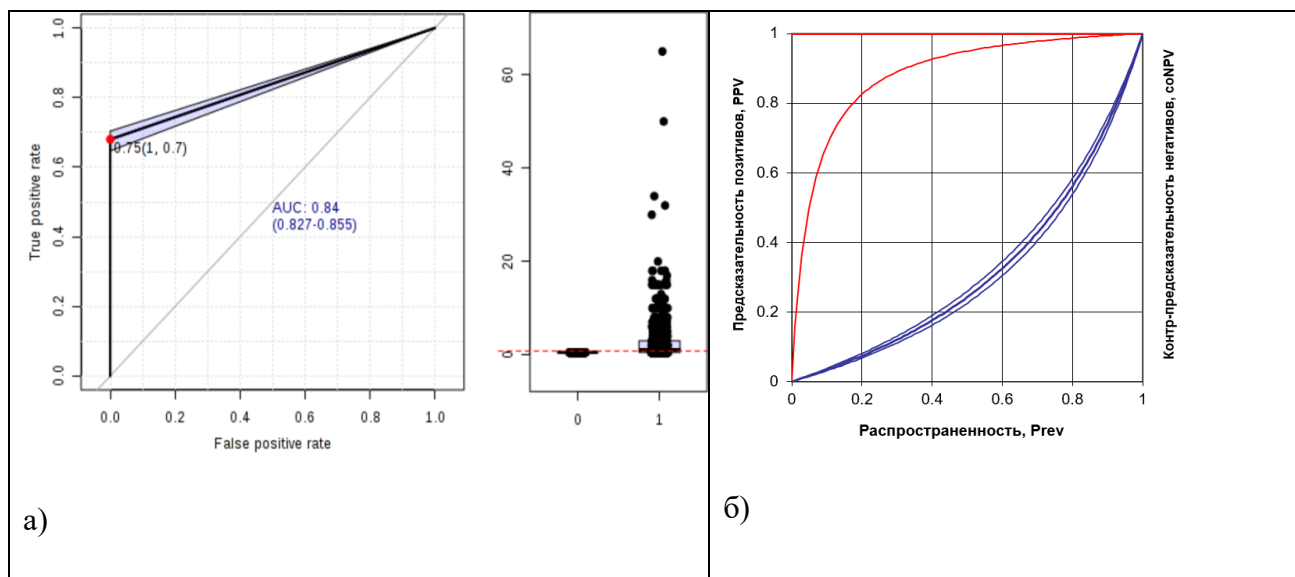


Рис. 2 Результаты ROC-анализа определения плазматических клеток (CD138+) в эндометрии иммуногистохимическим методом у женщин с хроническим эндометритом: а) ROC-кривая с 95%-й доверительными зонами, AUC и коробочные графики с 95%-ми доверительными интервалами; б) графики предсказательностей с 95%-ми доверительными интервалами.

Примечание: *COP* –пороговое значение (оптимальная дискриминирующая точка). На коробочном графике по оси абсцисс: 0 – контрольная группа, 1 – группа с ХЭ.

Результаты ROC-анализа позволили установить пороговое значение *COP* (оптимальная дискриминирующая точка или точка отсечения) для ПК, которое составило 0,75кл/5мм². Таким образом, обнаружение даже одной ПК в эндометрии уже может качественно указывать на возможное наличие ХЭ у пациентки. По данным других авторов показано, что обнаружение 1 - 2 ПК также является диагностическим значимым критерием ХЭ [1,2,7]. Однако, столь малое количество ПК не может достоверно отражать выраженность воспалительного процесса. Результаты подробного анализа статистических показателей информативности диагностики ХЭ на основе количественного определения ПК в эндометрии ГИСТ и ИГХ методами представлены в табл. 3

Таблица 3

Основные статистические показатели качества и информативности диагностики ХЭ на основе количественного определения ПК в эндометрии гистологическим и иммуногистохимическим методами.

Показатель информативности диагностического теста		Статистические показатели информативности с 95%-ми ДИ		
		Обозначения	Метод	
			определения плазматических клеток гистологический	Иммуногистохимический
Чувствительность теста к наличию ХЭ		<i>Se</i>	45 7 %	65 68 71 %
Специфичность теста по отношению к отсутствию ХЭ		<i>Sp</i>	96 99 100 %	97 99 100 %
Отношение правдоподобий для:	положительного результата	<i>LR[+]</i>	1,5 5,7 220	20 71 2790
	отрицательного результата	<i>LR[-]</i>	1,02 1,05 1,07	2,8 3,1 3,4
Прогностическая ценность теста при распространенности ХЭ <i>Prev</i> = 1,0 2,0 3,0 % для:	положительного результата	<i>PPV</i>	2 10 46 %	17 59 91 %
	отрицательного результата	<i>NPV</i>	97 98 99 %	99,0 99,3 99,5 %
Прогностическая ценность теста при распространенности ХЭ <i>Prev</i> = 10 20 30 % для:	положительного результата	<i>PPV</i>	16 59 91 %	71 95 99 %
	отрицательного результата	<i>NPV</i>	73 81 87 %	89 93 95 %

Примечание: отношение правдоподобий *LR[+]* показывает, во сколько раз более вероятно получить положительный результат теста у пациенток с ХЭ, чем у пациенток без него. Отношение правдоподобий *LR[-]* показывает, во сколько раз более вероятно получить отрицательный результат теста у пациенток без ХЭ, чем у пациенток с ним.

Диагностика ХЭ на основе определения ПК как ГИСТ, так и ИГХ методами демонстрирует высокую специфичность: $Sp=97,99\%$ - для ИГХ и $Sp=96,99\%$ - для ГИСТ, подтверждает значимую связь ПК с диагнозом ХЭ. Однако, чувствительность ГИСТ метода для выявления ПК существенно ниже в сравнении с чувствительностью ИГХ метода с помощью антител CD138 и составила для ГИСТ: $Se = 45,7\%$, и для ИГХ - $Se = 65,68\%$ (табл.3).

В клинической практике наиболее важными являются такие показатели информативности, как прогностическое значение при положительном результате (PPV) и отрицательном результате (NPV), которые показывают вероятность прогноза выявления доли пациентов с правильным диагнозом (наличием) при положительном результате теста и доли пациентов с правильным диагнозом (отсутствием) при отрицательном результате теста. Данный показатель сильно зависит от распространенности диагностируемого заболевания. На рис.1 (б) и рис.2(б) показаны графики зависимости прогностической ценности (PPV и NPV) от распространенности с границами 95%-х доверительных зон (ДЗ) на которых видно, что более выгнуты эти линии для ИГХ метода в сравнении с ГИСТ метода. Прогностическая ценность положительного (верхние красные линии) и отрицательного (нижние синие линии) результатов диагностического теста выше для ИГХ метода. Диагностическая информативность ПК как показателя диагностического теста для установления диагноза ХЭ оценивалась значениями отношений правдоподобий (LR) и прогностической ценности для диагностического теста (PPV). Для ГИСТ метода отношение правдоподобий при положительном результате (обнаружении ПК) ($LR[+]$) и отрицательном (отсутствии ПК) ($LR[-]$) были низкими и неинформативными: $LR[+] = 1,55,7220$ и $LR[-] = 1,021,051,07$. Таким образом, поиск ПК в эндометрии как показателя ХЭ при ГИСТ методе увеличит вероятность установления диагноза ХЭ при их обнаружении в 5 раз среди пациенток с наличием ХЭ. Тогда как при отрицательном результате и отсутствии ПК в эндометрии значение $LR[-]LR[-] = 1,021,051,07$, что указывает на неинформативность данного показателя для исключения ХЭ как среди здоровых, так и среди больных пациенток.

Для ИГХ метода значения показателей информативности были существенно выше: при положительном результате (обнаружении ПК) $LR[+] = 2071,2790$ и при отрицательном результате (отсутствии ПК) $LR[-]_{3,1} = 2,83,13,4$. Полученное значение отношения правдоподобий $LR[+] = 2071,2790$ означает, что в 71 раз более правдоподобно получить положительный результат теста у пациенток с наличием ХЭ, чем у пациенток без ХЭ.

В таблице 3 представлены значения прогностической ценности при двух вариантах распространенности ХЭ: $Prev = 2\%$ в диапазоне от 1% до 3% и $Prev = 20\%$ диапазоне от 10% до 30%. При распространенности ХЭ около 2% в обоих случаях значения прогностической ценности (PPV) при положительном результате теста (обнаружении ПК в эндометрии) низкие. Соответственно, прогностическая вероятность истинно положительных диагнозов ХЭ при ориентировании на положительный единственный критерий – обнаружение ПК – может быть установлена при ГИСТ методе в среднем от 10% заведомо больных ХЭ ($PPV_{2\%и} = 2\ 10\ 46\ \%$) до 59% случаев ($PPV_{20\%} = 16\ 59\ 91\ \%$). При распространенности около 20% и использовании ИГХ метода определения ПК значение PPV возрастает: $PPV_{20\%} = 71\ 95\ 99\ \%$.

Таким образом, прогностическая ценность ПК при использовании его в качестве диагностического теста для установления ХЭ при ГИСТ методе низкая и неинформативная. Ориентирование в диагностике ХЭ, исключительно, на единственный критерий - ПК может быть причиной гиподиагностики (ложноотрицательного диагноза) заболевания. Типовой и частой локализацией ПК в эндометрии было обнаружение их в периваскулярных зонах и вокруг очаговых плотных скоплений лимфоцитов, формирующих фолликулоподобные структуры (рис.3).

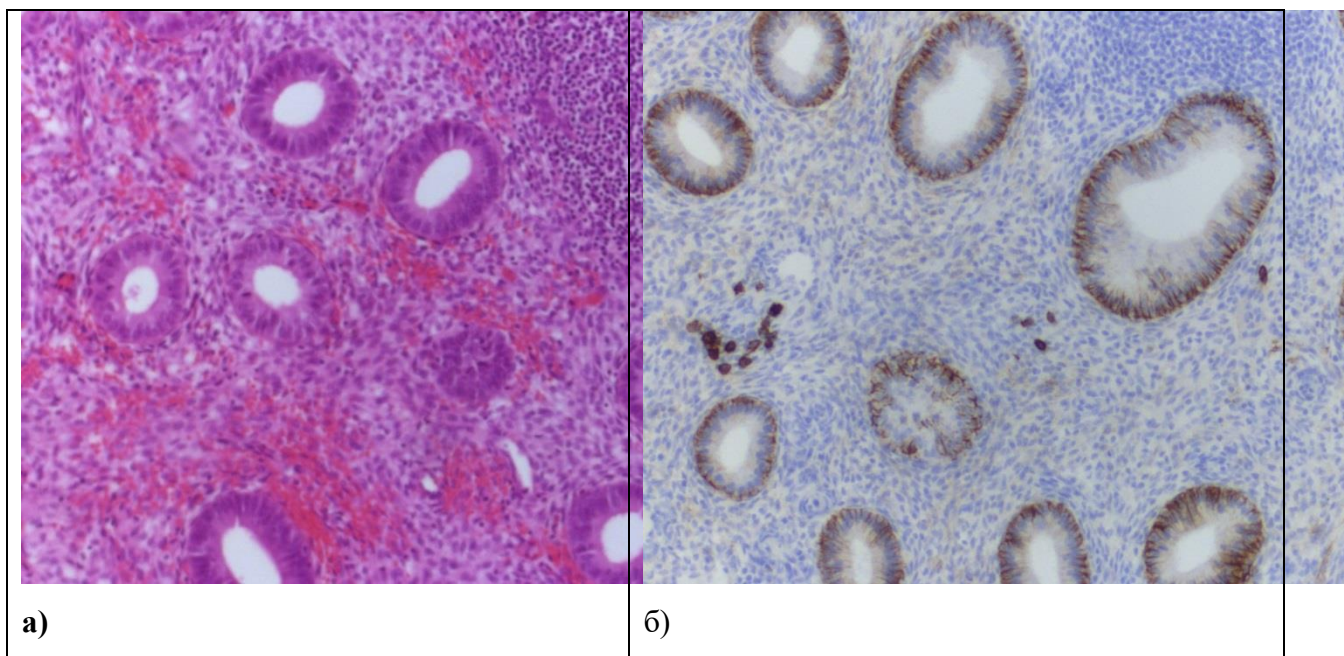


Рис.3. Хронический эндометрит: а) цитогенная строма с инфильтрацией лимфоцитами, среди которых крайне трудно визуализировать плазматические клетки. Ув. x200. Окраска гематоксилином и эозином. б) тот же слайд при иммуногистохимическом исследовании с антителами к CD138: определяются скопления коричнево-окрашенных CD138+ плазматических клеток, (проявление реакции диаминобензидином). Ув. x200.

Известно, что морфологическая диагностика ХЭ улучшается при использовании ИГХ метода, позволяющего с помощью специфических маркеров выявлять в ткани ПК. По данным ряда исследователей чувствительность ИГХ метода варьирует от 56% до 75% [5,6]. Полученные результаты проведенного нами ROC – анализа подтверждают высокую чувствительность ИГХ метода, которая составила 68%.

Выводы

- 1 ГИСТ метод диагностики ХЭ основанный на определении ПК при высокой специфичности ($Sp = 97,99_{100} \%$) является малоинформативным при положительном результате ($LR[+] = 1,45,2_{205}$); неинформативным при отрицательном результате ($LR[-] = 1,01,05_{1,07}$); имеет низкую прогностическую ценность ($PPV = 210_{46} \%$) и низкую чувствительность ($Se=5\%$), что может приводить к гиподиагностике ХЭ.
- 2 Применение ИГХ метода показало высокую чувствительность ($Se=68\%$) и диагностическую информативность ($LR[+] = 1971_{2790}$) при обнаружении уже одной ПК (пороговое значение, $COR = 0,75$ кл/п.зр.), имеет убедительно высокую прогностическую ценность ($PPV = 7195_{99} \%, NPV = 8993_{95} \%$).
- 3 В связи с этим, морфологическая диагностика хронического эндометрита должна быть комплексной с учетом всех морфологических критериев, отражающих хроническое воспаление. Такое направление исследования позволит улучшить диагностику и выявить заболевание на ранней стадии клинического течения.

Список литературы

1. Crum C.P., Egawa K., Fenoglio C.M., Richart R.M. Chronic endometritis: The role of immunohistochemistry in the detection of plasma cells. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1983. Vol. 147. P. 812–5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6359886>
2. Bayer-Garner I.B., Korourian S. Plasma cell in chronic endometritis are easily identified when stained with Syndecan-1. *Mod.Pathol.* 2001. Vol. 14. P. 877–9. doi: 10.1038/modpathol.3880405
3. Liu Y., Chen X., Huang J., Wang C.C., Yu M.Y., Laird S., Li T.C. Comparison of the prevalence of chronic endometritis as determined by means of different diagnostic methods in women with and without reproductive failure. *FertilSteril.* 2018. Vol. 109(5). P. 832-839. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.01.022
4. Kasius J.C., Fatemi H.M., Bourgain C., Sie-Go D.M., Eijkemans R.J., Fauser B.C., Devroey P., Broekmans F.J. The impact of chronic endometritis on reproductive outcome. *Fertil.Steril.* 2011. Vol. 96. P. 1451-1456. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.09.039>
5. McQueen D.B., Perfetto C.O., Hazard F.K., Lathi R.B. Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss. *Fertil.Steril.* 2015. Vol. 104(4). P. 927-931. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.06.044.
6. Vicetti Miguel R.D., Chivukula M., Krishnamurti U., Amortegui A.J., Kant J.A., Sweet R.L., Wiesenfeld H.C., Phillips J.M., Cherpes T.L. Limitations of the criteria used to diagnose histologic endometritis in epidemiologic pelvic inflammatory disease research. *Pathol. Res. Pract.* 2011. Vol. 15. №. 207(11). P. 680-5. doi: 10.1016/j.prp.2011.08.007.
7. Kitaya K.1., Yasuo T. Immunohistochemical and clinicopathological characterization of chronic endometritis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2011. Vol. 66. P. 410-415. doi: 10.1111/j.1600-0897.2011.01051.x.
8. Kannar V., Lingaiah H.K., Sunita V. Evaluation of endometrium for chronic endometritis by using syndecan-1 in abnormal uterine bleeding. *J Lab Physicians.* 2012. Vol. 4(2). P. 69-73. doi: 10.4103/0974-2727.105584
9. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica.* 2001. Vol. 4(1). P. 9. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm

10. ГОСТ Р 53022.3-2008. Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов. М.: Стандартинформ, 2009; 20 с.

GOST R 53022.3-2008.Tekhnologii laboratornye klinicheskie.Trebovaniya k kachestvu klinicheskikh laboratornykh issledovaniy.Part 3. .Pravila otsenki klinicheskoy informativnosti laboratornykh testov. M.: Standartinform, 2009; 20 s. <http://filegiver.com/free-download/gost-r-53022-3-2008.pdf>

11. Тишков А.В., Хромов-Борисов Н.Н., Комашня А.В., Марченкова Ф.Ю., Семенова Е.М., Эюбова Н.И., Делакова Е.А., Быхова А.В. Статистический анализ таблиц 2×2 в диагностических исследованиях. – СПб.: Издательство СПбГМУ, 2013. – 20 с.

Tishkov A.V., Khromov-Borisov N.N., Komashnya A.V., Marchenkova F.Yu., Semenova E.M., Eyubova N.I., Delakova E.A., Bykhova A.V. Statisticheskij analiz tablits 2×2 v diagnosticheskikh issledovaniyakh. – SPb.: Izdatel'stvo SPbGMU, 2013. – 20 s.

12. Xia J., Wishart D.S. Using MetaboAnalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis. Current Protocols in Bioinformatics. 2016. Vol. 55. P. 14.10.1-14.10.91. doi: 10.1002/cpbi.11.

13. Watkins M. W. An EXCEL program for calculating and graphing the Receiver Operating Characteristic (ROC) [Computer software]. State College, PA: Ed & Psych. Associates. 2000. <http://edpsychassociates.com/Software/ROCanalysis.xls>

14. Louis T.A., Zeger S.L. Effective communication of standard errors and confidence intervals. Biostatistics (Oxford, England). 2009. Vol. 10(1). P. 1–2. doi:10.1093/biostatistics/kxn014