

005006023

На правах рукописи

СОРОКИНА АННА ВЛАДИМИРОВНА

**ПАТОГЕНЕЗ, ПРОГНОЗИРОВАНИЕ И ПОСТГЕНОМНАЯ
ДИАГНОСТИКА АДЕНОМИОЗА**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

14.03.03 – Патологическая физиология

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

22 ДЕК 2011

**Москва
2011**

На правах рукописи

СОРОКИНА АННА ВЛАДИМИРОВНА

**ПАТОГЕНЕЗ, ПРОГНОЗИРОВАНИЕ И ПОСТГЕНОМНАЯ
ДИАГНОСТИКА АДЕНОМИОЗА**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

14.03.03 – Патологическая физиология

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

**Москва
2011**

Работа выполнена на кафедре акушерства и гинекологии с курсом перинатологии ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов».

Научные консультанты:

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

В.Е. Радзинский

Член-корреспондент РАМН,
доктор медицинских наук, профессор

С.Г. Морозов

Официальные оппоненты:

профессор кафедры семейной медицины
ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздравсоцразвития, д.м.н.

К.Г. Серебrenникова

Профессор кафедры акушерства и гинекологии
педиатрического факультета
ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова, д.м.н.

Л.М. Капушева

зав. кафедрой патологической физиологии
стоматологического факультета Московского
государственного медико-стоматологического
университета, д.м.н., профессор

А.Г. Русанова

Ведущая организация:

ГУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии»

Защита состоится «21» февраля 2012 г. в 11.00 часов на заседании
диссертационного совета Д212.203.01 в Российском университете дружбы
народов по адресу: 117333, г. Москва, ул. Фотиевой, д.6.

С диссертационной работой можно ознакомиться в Научной библиотеке
Российского университета дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-
Маклая, д.6).

Автореферат разослан «__» _____ 2011 года

Ученый секретарь

диссертационного совета
доктор медицинских наук,
профессор

И.М.Ордианц

Общая характеристика диссертации

Актуальность проблемы. Несмотря на вековую историю изучения различных аспектов проблемы эндометриоза, это заболевание остается одной из центральных медико-социальных проблем. Эндометриоз стоит на III месте в структуре гинекологической заболеваемости и поражает более 50% женщин в репродуктивном возрасте, отрицательно влияя на психоэмоциональное состояние, снижая работоспособность и репродуктивную функцию (Адамян Л.В., Кулаков В.И., 2006).

В течение последнего десятилетия отмечено возрастание частоты заболевания эндометриозом, а также «омоложение» контингента заболевших. Однако сколько-нибудь точно судить о распространенности этого заболевания трудно, поскольку нет четких статистических данных (Дамиров М.М., 2010).

Многообразие локализаций эндометриоза обусловило большое число теорий его происхождения. Однако ни одна из них не может до конца объяснить возникновение и разрастание эндометриоидных гетеротопий.

Нет сомнений в мультифакториальном характере эндометриоза. В основе многих таких заболеваний лежит нарушение молекулярных механизмов как синтеза, так и особенно транспорта регуляторных белков, что было основанием для присуждения Нобелевской премии по физиологии и медицине Л.Хартвеллу и П.Нерсу в 2001 году.

В последние годы генитальный внутренний эндометриоз тела матки (аденомиоз) принято рассматривать в качестве особого заболевания, которое существенно отличается от наружного эндометриоза по патогенезу, эпидемиологии и клинической картине (Сидорова И.С., Коган Е.А., 2008; Bergeron C. et al., 2006).

Удельная частота аденомиоза в структуре генитального эндометриоза достигает 70-90%. На основании клинических проявлений диагноз «аденомиоз» может быть поставлен в лучшем случае в 50% наблюдений, в 75% случаев диагноз не устанавливается, в 35% наблюдается гипердиагностика (Гаврилова Т.Ю., 2007). Это связано с тем, что этиология и патогенетические механизмы, ответственные за развитие аденомиоза, до сих пор недостаточно подробно изучены и для корректной диагностики требуется гистопатологическое заключение после удаления матки.

В последнее время для диагностики аденомиоза широко применяют метод ультразвуковой диагностики (УЗИ), однако данные о его информативности противоречивы, так как визуальные характеристики эндометриоидных очагов базируются на косвенных эхографических признаках (Rizk, 2010).

Гистероскопия обладает большей информативностью в диагностике аденомиоза по сравнению с УЗИ, однако данный метод является инвазивным, требующим госпитализации и к тому же не дает в 100% случаев достоверный

диагноз (Bradley, 2009). Широко распространенная на западе офисная гистероскопия пока не завоевала в нашей стране большой популярности в виду большой стоимости оборудования.

Следовательно, необходима разработка и внедрение в практику новых и информативных методов ранней диагностики аденомиоза.

В последние годы для поиска в сыворотке крови новых маркеров различных заболеваний все чаще используются постгеномные методы анализа, среди которых протеомные технологии занимают ведущие позиции (GehoD.H., 2006; Belluco S., 2007; Leiser A. et al., 2007; Ильина Е.Н., Говорун В.М., 2009).

Масс-спектрометрия – метод анализа вещества путем определения отношения массы к заряду и относительного количества ионов, получаемых при ионизации и фрагментации исследуемого вещества. За разработку этого метода Джон Фенн и Коичи Танаке были удостоены Нобелевской премии по химии в 2002 году.

Рядом преимуществ по сравнению с другими вариантами обладает времяпролетная МАЛДИ масс-спектрометрия. Этот метод обладает большей производительностью и чувствительностью (Baumann S., 2005; De Noo M.E., 2005; Alexandrov T. et al., 2010).

В литературе описаны примеры успешного применения этого метода для выявления различий между сывороткой крови больных раком желудка, прямой кишки, простаты, эндометрия, яичников, гепатоклеточной карциномы и сывороткой крови здоровых людей (De Noo M.E., 2006; Engwegen J.Y., 2006; Liotta L.A., 2006; Зиганшин Р.Х. с соавт., 2008). В то же время информативность МАЛДИ масс-спектрометрии при аденомиозе до сих пор изучена не была.

Результаты многолетних клинических исследований по проблеме эндометриоза позволили В.Е. Радзинскому и соавт. (2005) заключить, что естественное течение заболевания на начальном этапе абсолютно непредсказуемо. Особого внимания заслуживают данные авторов о том, что прогрессирующее течение аденомиоза обнаруживается у 2/3 пациенток в течение года с момента установления диагноза. При этом невозможно предсказать, у каких именно пациенток патологический процесс будет прогрессировать.

По данным последних лет эффективность лечения аденомиоза определяется степенью его активности, установление которой, особенно на дооперационном этапе, представляет большие трудности (Унанян А.Л., 2006; Nucci, 2010).

К настоящему времени можно считать доказанной роль многих цитокинов и факторов роста в патогенезе эндометриоза (Khan K.N. et al.,

2005; Lee S. et al., 2007; Kim J.G. et al., 2008). В то же время, лишь очень небольшое число исследований касалось аденомиоза (Сидорова И.С., Унанян А.Л., 2006; Бурлев В.А., 2006; Bergeron С., 2006; Есаян Н.Г., 2007; Гаврилова Т.Ю., 2007).

В последние годы изменилось представление о роли системы врожденного (неспецифического) иммунитета. Было установлено, что эта система активируется не только в ответ на внедрение инфекционных патогенов, но и при различных эндогенных деструктивных процессах. (Клюшник Т.П., 2007; Lehnardt S., 2010).

Активность лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) и $\alpha 1$ - протеиназного ингибитора ($\alpha 1$ -ПИ) в сыворотке крови отражают степень активации врожденного иммунитета, а также состояние антипротеолитического (компенсаторного) потенциала.

В качестве иллюстрации вышесказанного можно привести работу Адамян Л.В. и соавт. (2005), в которой продемонстрирована зависимость концентрации ЛЭ в крови и в перитонеальной жидкости от степени распространенности аденомиоза, что определялось морфологически, однако взаимосвязь с клинической картиной и со степенью тяжести аденомиоза изучена не была.

Таким образом, комплексное определение вышеперечисленных показателей иммунитета позволяет выявить наличие патологического деструктивного процесса в организме и уточнить его тяжесть, а также выраженность компенсаторного потенциала.

Подводя итог, нужно отметить, что, несмотря на большое число исследований, посвященных различным аспектам аденомиоза, до сих пор не выяснены вопросы этиологии и патогенеза заболевания, отсутствуют четкие диагностические критерии и надежные неинвазивные методы диагностики, методы определения прогноза аденомиоза. В связи с этим представляет большой интерес разработка вопросов патогенеза развития аденомиоза, современных критериев диагностики и прогнозирования течения данного заболевания.

Цель исследования

Разработать и внедрить комплекс постгеномных методов исследования для повышения точности диагностики и прогнозирования течения аденомиоза на основании расширения знаний о молекулярно-биологических аспектах его патогенеза.

Задачи исследования

1. Оценить информативность существующих традиционных методов диагностики аденомиоза.

2. Выявить в сыворотке крови потенциальные пептидные маркеры аденомиоза и обосновать возможность их использования для диагностики данного заболевания.
3. Провести сравнение потенциальных пептидных маркеров в сыворотке крови у больных с различными доброкачественными и злокачественными гинекологическими заболеваниями в рамках дифференциальной диагностики аденомиоза.
4. Определить роль факторов роста и ряда цитокинов в возникновении и развитии аденомиоза, а также зависимость между их концентрацией в сыворотке крови и степенью активности течения аденомиоза.
5. Проанализировать активность Тх1- и Тх2-клеток, составляющих основную часть популяции CD4+, при аденомиозе.
6. Определить роль некоторых компонентов неспецифического иммунитета (лейкоцитарной эластазы и $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора) в патогенезе аденомиоза, а также зависимость между их концентрацией в сыворотке крови и степенью активности течения аденомиоза.
7. Оценить возможность использования цитокинов, факторов роста, показателей системы неспецифического иммунитета в прогнозировании и диагностике аденомиоза, а также определении активности его течения.
8. Разработать и обосновать алгоритм обследования женщин с риском возникновения аденомиоза для определения прогноза и/или ранней диагностики заболевания.

Научная новизна

Расширены представления о патогенезе аденомиоза и его особенностях, а также показаны клинические признаки при различной активности течения заболевания.

Дана сравнительная оценка визуальных методов диагностики (УЗИ, гистероскопия) аденомиоза.

Впервые методом протеомного профилирования сыворотки крови с использованием МАЛДИ масс-спектрометрии определены диагностические маркеры аденомиоза, доказана возможность проведения дифференциальной диагностики между аденомиозом и другими гинекологическими заболеваниями (миомой матки, гиперплазией эндометрия и пр.)

В новых и расширенных представлениях о патогенезе аденомиоза определена роль Т-хелперов 1 и 2 типа, составляющих основную часть популяции CD4+ и определяющих тип иммунного ответа. Показано, что Тх1-клетки, синтезирующие ИФ γ , ФНО α и ИЛ-2, не принимают непосредственного участия в развитии аденомиоза, в то время как Тх2-клетки, синтезирующие ИЛ-6 и ИЛ-10, играют значительную роль в иммунных реакциях при аденомиозе.

Помимо этого, установлена роль про- и противовоспалительных цитокинов, а также факторов роста в патогенезе аденомиоза. Впервые выявлена взаимосвязь между уровнем данных показателей в сыворотке крови и степенью активности течения аденомиоза, что имеет значение в прогнозировании заболевания, а также выборе тактики ведения больных.

На основании комплексного исследования показателей врожденного иммунитета в сыворотке крови определено их место в диагностике заболевания и намечены возможные пути коррекции. Определено значение степени нарушений системы протеолиза в прогнозировании заболевания.

Практическая значимость

Разработан алгоритм обследования, прогнозирования, ранней диагностики и тактики ведения больных аденомиозом, что позволяет достоверно устанавливать диагноз без применения инвазивных методов диагностики, а также оценивать степень активности заболевания и определять дальнейшую тактику ведения больных.

Установлена высокая ценность комплексного обследования больных аденомиозом (анализ жалоб, анамнеза, результатов УЗИ) и современных инновационных методов диагностики, таких как МАЛДИ масс-спектрометрия, исследование цитокинов, факторов роста и показателей врожденного иммунитета, что позволяет определить степень распространения процесса, прогноз заболевания, правильно выбрать способ лечения.

Использование предложенного алгоритма диагностики целесообразно не только с клинических позиций, но и с экономических, т.к. позволяет снизить затраты лечебного учреждения за счет более быстрой и достоверной диагностики. Сыворотка крови, используемая в данном методе диагностики, является клиническим образцом, который удобно получать, хранить и транспортировать из любых отдаленных районов.

Положения, выносимые на защиту

1. Традиционные методы диагностики аденомиоза – клинический, УЗИ, гистероскопия и их сочетания не достигают высокой чувствительности и специфичности и, следовательно, не являются достаточными для верификации диагноза, определения степени активности процесса и выбора оптимальной тактики.

2. Изменения в сыворотке крови, возникающие при аденомиозе, определяемые с помощью протеомного профилирования с использованием МАЛДИ масс-спектрометрии, информативны в дифференциальной диагностике аденомиоза и других доброкачественных и злокачественных гинекологических заболеваний.

3. В развитии аденомиоза важную роль играют нарушения в системе цитокинов (интерлейкины – 6 и 10), факторов роста (сосудисто-эндотелиальный фактор роста, эпидермальный фактор роста), компонентов врожденного иммунитета (лейкоцитарная эластаза и $\alpha 1$ -протеиназный ингибитор). Реакции Тх1-клеток не связаны с патогенезом аденомиоза, в то время как активность Тх2-клеток имеет принципиальное значение для развития эффективного иммунитета при аденомиозе.

4. Увеличение содержания цитокинов, факторов роста и лейкоцитарной эластазы в сыворотке крови коррелирует со степенью активности аденомиоза; на основании значений концентрации $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора можно делать выводы о степени компенсаторного потенциала и определять прогноз заболевания.

Апробация диссертационного материала

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены на Международных конгрессах: VI Региональный научный форум «Мать и дитя» (Екатеринбург, 2010), XI Всероссийский научный форум «Мать и дитя» (Москва, 2010), V Конгресс Международной Ассоциации Репродуктивной Медицины (Москва, 2010), XIII Всемирный Конгресс «Вопросы акушерства, гинекологии и бесплодия» (Германия, Берлин, 2010), XI Всемирный Конгресс по эндометриозу (Франция, Монпелье, 2011), Всероссийская конференция с международным участием по гинекологической эндокринологии и менопаузе (Москва, 2011).

Обсуждение диссертации состоялось на совместной научной конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» и практических врачей ГКБ №29 г.Москвы 15 сентября 2011 года.

Внедрение результатов работы

Разработанная система диагностики аденомиоза и результаты работы внедрены в практику врачей акушеров-гинекологов ГКБ №64, ГКБ №12, поликлинического отделения ФГУ НИИ ФХМ ФМБА России, а также используются в материалах семинаров, лекций, на практических занятиях по повышению квалификации врачей акушеров-гинекологов ФПК МР ФГБОУ ВПО РУДН.

По материалам диссертации опубликовано 24 научных работ в отечественной и зарубежной печати, из них 16 - в журналах, включенных в перечень ВАК РФ. Материалы диссертации опубликованы в учебном пособии «Эндометриоз» (2011).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 178 странице машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций и указателя

литературы. Библиография включает 317 источников литературы (125 - отечественные и 192 - зарубежные). Работа иллюстрирована 17 таблицами и 21 рисунком.

Содержание диссертационного исследования

Программа, контингент, материал и методы исследования. Для достижения поставленной цели исследования было проведено обследование 170 пациенток, из которых 120 - больные аденомиозом разной степени активности и распространенности - основная группа.

Контрольную группу составили 50 пациенток репродуктивного и пременопаузального возраста без аденомиоза, которые подверглись гистерэктомии с последующим патоморфологическим исследованием тела матки по поводу пролапса гениталий.

Для повышения специфичности исследования больные аденомиозом в сочетании с миомой матки и гиперплазией эндометрия из исследования были исключены. Данные заболевания часто сочетаются, поэтому для выявления истинных аспектов патогенеза аденомиоза, а также с целью дифференциальной диагностики доброкачественных заболеваний тела матки, было решено изучать больных аденомиозом без сопутствующей гинекологической патологии.

Исследование проводилось на материалах гинекологических отделений ГКБ №64, ГКБ №29, ГКБ №12, НМХЦ им. Н.И.Пирогова Росздрава, поликлинического отделения ФГУ НИИ ФХМ ФМБА России, РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН России.

В основной группе аденомиоз был диагностирован клинически с использованием дополнительных методов обследования. Диагностика степени распространения проводилась на основании данных влагалищного исследования (динамика размеров, формы, консистенции матки в течение цикла), гистероскопических, ультразвуковых критериев и данных патоморфологического исследования.

36 (30%) из 120 пациенток с аденомиозом подверглись радикальному оперативному лечению – удалению матки. У данной группы больных был произведен повторный забор сыворотки крови в среднем через 6 месяцев после оперативного лечения и проведены дальнейшие исследования.

При проведении протеомного профилирования сывороток крови мы использовали накопленную коллекцию сывороток крови и базу данных пациенток с миомой матки (n=60), гиперпластическими процессами эндометрия (n=50), раком тела матки (n=50) и раком яичников (n=60), хранящихся в лаборатории протеомики Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН.

В связи с выявленными различиями и особенностями в клиническом течении и молекулярно-биологических процессах, в работе мы использовали термины «активный» и «неактивный» аденомиоз, отражающие степень

клинической и морфологической активности эндометриоидного процесса (Сидорова И.С., Унанян А.Л., 2006).

В зависимости от степени выраженности основных клинических проявлений, характерных для аденомиоза, все исследованные пациентки с аденомиозом ($n=120$) условно были разделены на 2 клинические группы: I группу составили 76 пациенток с клинически «активным» аденомиозом; II группу – 44 пациентки с клинически «неактивным» аденомиозом. III группу составили 50 пациенток без аденомиоза (контроль).

Для определения форм клинической активности производили оценку наиболее распространенных клинических проявлений аденомиоза – болевого синдрома и гиперполименореи.

Степень болевого синдрома оценивали с помощью предложенной MacLavery C.M., Shaw P.W. (1995) системы для определения выраженности болей и дисменореи, согласно которой интенсивность боли определялась в баллах: 1-3 балла – слабая боль; 4-6 – умеренная боль; 7-9 – сильная.

Общеизвестно, что наличие аденомиоза часто сопровождается маточными кровотечениями, зачастую вызывающими анемизацию больных. В связи с этим гипер- и полименореей различали без анемии и с анемией. По степени тяжести различали легкую ($Hb\ 90-110\text{г/л}$), среднюю ($Hb\ 70-90\text{г/л}$) и тяжелую (Hb – ниже 70г/л) анемию.

Пациенток с умеренной и сильной болью и пациенток с гиперполименореей в сочетании с анемией средней и тяжелой степени относили к I группе больных с клинически активным проявлением заболевания. Больных со слабой болью, отсутствием анемии или гиперполименореей в сочетании с анемией легкой степени относили ко II группе пациенток, с клинически неактивным течением аденомиоза.

В соответствии с поставленными целью и задачами была разработана программа обследования пациенток, предусматривающая комплексное исследование состояния здоровья, включающая традиционные и специальные инновационные методы обследования (рис. 1).

Анализ историй болезни проводили с помощью разработанной нами статистической карты. На каждую пациентку была составлена индивидуальная карта, в которой имелось более 200 параметров. Изучение анамнестических данных базировалось на уточнении семейной предрасположенности к гинекологическим и прочим заболеваниям. Пристальное внимание было уделено перенесенным в различные периоды жизни заболеваниям (детские инфекции, соматические, гинекологические заболевания), их течению, исходу. Регистрировались оперативные вмешательства с уточнением времени их выполнения.



Рис. 1. Методы исследования.

Особое место отводилось изучению специфических функций женского организма. Анализ менструальной функции включал, помимо установления возраста менархе, изучение ее характера, регулярности и продолжительности менструального цикла. Половая жизнь: с какого возраста началась, какой брак по счету. Репродуктивная функция оценивалась по числу беременностей, течению, исходу для матери и плода. Внимание уделялось анализу числа и особенностей течения родов, частоте их осложнений, применению оперативных вмешательств.

Течение настоящего заболевания изучалось по времени его обнаружения, динамике развития, предшествовавшему лечению и его эффективности, состоянию функции смежных органов.

При клиническом обследовании проводили общий осмотр, оценку телосложения и конституциональных особенностей, состояния молочных желез, сердечно-сосудистой, дыхательной, мочевыделительной, пищеварительной, и эндокринной систем.

Гинекологический статус определяли на основании осмотра наружных половых органов, исследования влагалища и шейки матки с помощью зеркал, бимануального влагалищного исследования, по показаниям - прямокишечно-влагалищного исследования.

Из лабораторных методов исследования были использованы как рутинные (клинический анализ крови, общий анализ мочи, определение групповой и резус принадлежности крови, анализ биохимических параметров и гемостазиограммы, отражающих функцию печени и почек, глюкозы крови, реакция Вассермана, тест на ВИЧ-инфекцию и HBS-антиген, электрокардиография, рентгенография органов грудной полости, бактериоскопическое исследование влагалищного отделяемого), так и современные высокоинформативные методы визуализации - ультразвуковое трансабдоминальное и трансвагинальное сканирование органов малого таза на аппаратах Echoview 80 L Di и Aloka SSD - 636 и 650, гистероскопия с помощью жестких гистероскопов типа Namou I (30°) и Hopkins II (30°) (Karl Storz GmbH & Co., Германия) с наружным диаметром 5 мм.

Для данной работы требовалась сыворотка крови, получаемая по стандартной методике, которая разливалась в 6 пробирок типа «эппендорф» по 1 мл и хранилась при -20°C максимально в течение 1 месяца до момента транспортировки в холодильной камере в лабораторию, где хранение продолжалось при -70°C.

Протеомное профилирование сыворотки крови проводили научные сотрудники лаборатории протеомики Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук (руководитель – проф. В.М.Говорун).

Для фракционирования образцов сывороток крови использовали наборы для профилирования, содержащие магнитные микрочастицы с функционализированной поверхностью MB-HIC 8, MB-HIC 18, MB -WCX и MB-IMAC Cu производства компании Bruker Daltonics (Германия). Описание этих наборов для профилирования, а также рекомендованных для них протоколов фракционирования можно найти на Интернет странице компании - www.bdal.de.

Фракционирование сывороток крови проводили на специализированном роботе ClinProt robot (Bruker Daltonics, Германия), по протоколу,

рекомендованному производителем магнитных микрочастиц, с небольшими модификациями. Масс-спектры получали с использованием времяпролетного масс-спектрометра Ultraflex (Bruker Daltonics, Германия).

После профилирования сывороток крови по полученным массивам масс-спектров определяли комбинацию пиков, наилучшим образом отличающих спектры образцов патологии от контроля.

Масс-спектрометрические данные анализировали с использованием Генетического Алгоритма (ГА) и Управляемой Нейронной Сети (УНС), а также компьютерной программы ClinProTools 2.1 (Bruker Daltonics, Германия) (Hammer B. et al., 2005).

Определение факторов роста и других цитокинов в сыворотке крови с использованием твердофазного иммуноферментного анализа проводили на базе отделения клинической и экспериментальной иммунологии ГКБ №29 им. Н.Э.Баумана г. Москвы (руководитель – чл.-корр. РАМН, проф. С.Г.Морозов).

В данной работе проводилось определение концентрации цитокинов – ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-8, ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО α , ИФ γ с использованием диагностических тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Факторы роста – ЭФР, СЭФР – определялись с помощью тест-систем BioSource International.

Определение показателей врожденного иммунитета проводили в лаборатории клинической биохимии Научного центра психического здоровья РАМН (руководитель – проф. Т.П.Клюшник).

Для определения активности ЛЭ, находящейся в сыворотке крови в комплексе с α 1-ПИ, применяли спектрофотометрический метод с использованием набора реагентов для количественного определения активности лейкоцитарной эластазы в сыворотке крови (ЭЛАСТАЗА) (ООО «Биофарм-тест», Москва) и набора реагентов для количественного определения активности α 1-протеиназного ингибитора в сыворотке крови человека (АЛБФА-1-ПИ) (ООО «Биофарм-тест», Москва) в соответствии с Инструкцией по применению данных наборов.

Статистический анализ данных проводился совместно с сотрудником кафедры медицинской кибернетики и информатики ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздравсоцразвития России в.н.с. Олимпиевой С.П. с помощью разработанной на кафедре программы для персонального компьютера, позволяющей проводить сравнение организованных пользователем групп данных с использованием критерия Стьюдента (Т-критерия) и статистического непараметрического критерия - точного метода Фишера, не зависящего от характера распределения показателя.

После сравнения групп по каждому признаку в отдельности оценивалась информативность полного признакового пространства для различения всех заданных пользователем групп. Для получения такой оценки проводился скользящий экзамен правильности автоматического отнесения каждого

индивидуума к одной из сравниваемых групп с помощью последовательной байесовской процедуры распознавания.

Оценку точности диагностики заболевания с помощью данного метода принято формулировать в терминах чувствительность и специфичность.

Чувствительность подсчитывалась на обучающей выборке как процент случаев, в которых данный метод правильно выявил имеющееся заболевание. Специфичность – процент случаев правильного выявления данным методом отсутствия заболевания (Реброва О.Ю., 2006).

Для формирования графиков, а также для проверки нормального распределения количественных признаков, получения описательной статистики и сравнения сформированных групп пациентов с использованием критериев Стьюдента (Т-критерия) и Манна-Уитни (для признаков, имеющих отличное от нормального распределение) использованы пакеты программ EXCEL 2003 и STATISTICA 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение

В настоящем исследовании на основании анализа результатов обследования и лечения 120 больных аденомиозом и 50 пациенток без аденомиоза обобщены данные о патогенезе, особенностях клинического течения и диагностики данного заболевания.

В наших наблюдениях возраст пациенток аденомиозом варьировал в широких пределах – 26-50 лет, составив в среднем $39,5 \pm 5,7$ года: в группе пациенток с «активным» аденомиозом средний возраст составил $40,8 \pm 5,2$ года, в группе пациенток с «неактивным» аденомиозом – $38,2 \pm 4,7$ года, без достоверных различий между группами, что подтверждает данные о том, что в последние годы аденомиоз чаще встречается в более молодом возрасте (Safe G.M. et al, 2011; Zhou R. et al, 2011).

По мнению ряда авторов, возраст наступления менархе не является определяющим при аденомиозе (Гаврилова Т.Ю., 2007). В нашем исследовании возраст менархе составил $11,7 \pm 1,4$ года (достоверной взаимосвязи между возрастом менархе и активностью течения аденомиоза выявлено не было), что существенно не отличается от популяционных данных ($12,2 \pm 1,54$ года). Далеко не все исследователи соглашались с такой точкой зрения, считая позднее наступление менархе фактором риска развития аденомиоза. В то же время, по данным А.И.Ищенко и Е.А.Кудриной (2008), скорее раннее менархе с укороченным циклом, длительными и обильными менструациями и, следовательно, большей экспозицией полости матки и малого таза ретроградной менструальной кровью, является фактором риска эндометриоза любой локализации.

В нашем исследовании нарушения менструального цикла наблюдались у 92,5% больных. Так, дисменорея (100%), гиперполименорея (73,7%) и

мажущие перименструальные кровянистые выделения (93,4%) достоверно чаще фиксировались в группе больных «активным» аденомиозом ($p < 0,05$). Гиперменорея практически с одинаковой частотой наблюдалась в обеих группах (26,3% и 22,7%). Эти данные свидетельствуют о неполноценности механизмов регуляции менструального цикла, прежде всего гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы.

Наше мнение совпадает с данными ряда авторов о том, что объем и продолжительность менструации может являться predisposing фактором имплантации эндометриозных клеток, однако такие факторы, как наследственная предрасположенность и нарушения общего и локального иммунитета имеют приоритетное значение в развитии аденомиоза (Адамян Л.В., Кулаков В.И., 2006; Di W. et al., 2007; Zhao Z.Z. et al, 2008). Заслуживает внимания высокая степень отягощенности репродуктивного анамнеза у больных аденомиозом, особенно в группе с «активным» аденомиозом ($p < 0,05$). Большинство пациенток с аденомиозом имели в анамнезе от 2 до 8 искусственных абортов (55%), осложненных воспалительными процессами (23,3%), а также лечебно-диагностические выскабливания (59,2%).

У обследованных нами больных отмечается высокая частота хронических сальпингоофоритов и эндометритов в анамнезе – 51,6%; в популяции в среднем частота данных заболеваний составляет 37,2%. Обнаруженные данные подтверждают мнение, согласно которому внутриматочные вмешательства являются факторами риска развития аденомиоза. Ряд авторов считает, что благоприятные условия для инвазии и роста эндометриальных клеток в миометрии создают нейродистрофические изменения в зоне гистобиологического барьера, возникающие в результате димолитических и десмопластических процессов в слизистой оболочке, соединительной и мышечной ткани, нередко формирующиеся в результате воспаления (Lucidi R.S. et al., 2005; Bergeron C. et al., 2006; Talbi S. et al., 2006; Ищенко А.И., Кудрина И.А., 2008).

Частота бесплодия у больных эндометриозом колеблется от 25 до 60%. Эндометриоз занимает второе место среди причин бесплодия после воспалительных заболеваний органов малого таза (Klemmt P.A. et al., 2006; Адамян Л.В., Коган Е.А., 2010; Сельков С.А., Ярмолинская М.И., 2011; Богуславская Д.В., Lebovic D.I., 2011). По нашим данным, бесплодие было выявлено у 47,5% больных аденомиозом и достоверно чаще при «активном» аденомиозе ($p < 0,05$), причем у 23,3% - первичное, а у 24,2% - вторичное, которое наступало, как правило, после значительного числа абортов.

При изучении семейного анамнеза установлено, что 45% пациенток имели отягощенную наследственность относительно заболеваний половых органов, фиброзно-кистозной мастопатии (30,8%), опухолей

экстрагенитальной локализации (18,3%), эндокринопатий – заболевания щитовидной железы, сахарный диабет, ожирение (28,3%).

Изучение преморбидного фона с обращением особого внимания на заболеваемость в детстве, перенесенные в прошлом и сопутствующие в настоящее время заболевания выявило, что индекс здоровья обследованных больных аденомиозом был достоверно низким.

При изучении данных анамнеза было установлено, что больные аденомиозом в детстве перенесли ряд инфекционных заболеваний - 89 (74,2%) случаев против 14 (28%) в контрольной группе ($p < 0,05$). Число больных аденомиозом, перенесших детские инфекции, составило 67 (55,8%), частые острые респираторные заболевания - 72 (60%).

Большое значение в генезе аденомиоза имеют и хронические соматические заболевания. Как следует из анализа клинко-анамнестических данных, у пациенток с аденомиозом отмечается значительная частота хронических заболеваний. Так, обменно-эндокринные нарушения у больных аденомиозом встречались наиболее часто – в 23,3% случаев, на втором месте были выявлены заболевания желудочно-кишечного тракта - 20%; далее – хронические болезни органов дыхания (17,5%), сердечно-сосудистые заболевания (12,5%), патология мочевыделительной системы наблюдалась в анамнезе у 9,2% больных. Аллергические реакции к лекарственным препаратам и различным бытовым факторам имели у 22,5% пациенток, что косвенно может указывать на нарушения иммунного гомеостаза.

У части больных имелось несколько вышеперечисленных заболеваний. В зависимости от степени активности течения аденомиоза количество пациенток с выявленной экстрагенитальной патологией возрастала, составляя 34,1% - при «неактивном» аденомиозе и 51,3% – при «активном» аденомиозе.

Анализ собственных результатов клинического течения аденомиоза у пациенток не подтвердил достоверных различий в возрасте, времени наступления менархе, количестве родов и наследственности в зависимости от степени активности течения аденомиоза ($p > 0,05$).

Достоверными различиями в двух группах больных с «активным» и «неактивным» аденомиозом характеризовались – отягощенный гинекологический и соматический анамнез, что проявлялось более низким индексом здоровья больных «активным» аденомиозом.

Таким образом, воспалительные процессы половых органов и оперативные вмешательства на матке имеют большое значение в патогенезе аденомиоза. Подтверждением этому являются исследования, доказывающие, что беременность часто оказывает ингибирующее действие на эндометриoidные очаги, а аборт и осложненные роды ухудшают течение аденомиоза (Purandare C.N., 2006; Melin A. et al., 2007).

Помимо этого, высокий инфекционный индекс и сопутствующие экстрагенитальные заболевания также являются характерными чертами аденомиоза. Возможно, данные заболевания непосредственно не влияют на развитие аденомиоза, но снижение устойчивости организма к факторам внешней среды является фоном к формированию стойких метаболических нарушений и ослаблению иммунной системы. Эти изменения не носят специфического характера, так как по данным ряда авторов, аналогичные особенности заболеваемости и инфекционного индекса обнаруживаются и у больных миомой матки, гиперплазией эндометрия и пр. (Brinton D.A. et al., 2005; Гურიев Т.Д., 2005; Graesslin O. et al., 2006).

Предлагаемая современная концепция патогенеза гормонозависимых заболеваний репродуктивной системы женщин рассматривает подобные процессы с точки зрения местных и общих морфофункциональных и эндокринных нарушений и появлением «порочного круга» в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системе на фоне иммунодефицита (Адамян Л.В., Кулаков В.И., 2006; Ищенко А.И., Кудрина И.А., 2008).

Анализ длительности заболевания аденомиозом в зависимости от момента начальных клинических проявлений до первой госпитализации позволил выявить, что при «активном» аденомиозе продолжительность данного периода более чем у 50% больных составила 1-3 года, а при «неактивном» аденомиозе – 4-8 лет, то есть для «активного» аденомиоза характерна меньшая длительность заболевания с момента первых симптомов до госпитализации и соответственно быстрое прогрессирование процесса.

Наши результаты, основанные на сопоставлении клинической картины аденомиоза с данными патоморфологического исследования, согласуются с данными других авторов и подтверждают, что патогномоничные проявления аденомиоза характерны для 2-4 стадии диффузной формы, а также для узловой формы. Для диффузного аденомиоза 1 стадии не характерно наличие типичных клинических проявлений (дисменорея, гиперполименорея и пр.), однако он может сочетаться с бесплодием I или II и, возможно, являться его причиной (Гаврилова Т.Ю., 2007; Batt R.E., 2011; Exacoustos C., 2011).

По данным ряда авторов, клинический диагноз «аденомиоз» совпадает с гистологическим только в 25-65% случаев; имеет место как гипер-, так и гиподиагностика аденомиоза, определяющие ошибочную тактику ведения и прогноз (Ballard K.D., 2008; Benagiano G., Carrara S., 2009; Дамиров М.М., 2010).

В результате анализа предварительных диагнозов на догоспитальном этапе у больных аденомиозом была выявлена их значительная разнородность. Так, из 120 больных у 49% этот диагноз был поставлен правильно, у 18% аденомиоз

ошибочно был принят за миому матки, у 11% – за гиперплазию и полипы эндометрия, у 7% – за дисфункциональные маточные кровотечения; у 3% – за цистоаденому яичника. 9% больных длительное время обследовались и лечились у невропатолога, гастроэнтеролога, терапевта с подозрением на грыжу диска, остеохондроз, колит, спаечный процесс и пр.

Таким образом, на основании клинико-анамнестических данных и результатов гинекологического обследования аденомиоз был заподозрен у 95 больных, из них подтвержден – в 56 случаях. Доля ложноположительных результатов составила 41%. В то же время из 120 пациенток с подтвержденным аденомиозом, в клинический диагноз данная патология была вынесена у 62. Таким образом, доля ложноотрицательных результатов составила 48%. Чувствительность метода – 51,7%, специфичность – 59%.

В последнее время лидирующее место в первичной диагностике аденомиоза занимает УЗИ. Для диагностики аденомиоза у всех 120 больных наряду с бимануальным и ректовагинальным исследованием было проведено УЗИ органов малого таза, а также гистероскопия.

Ультразвуковое исследование было выполнено всем больным, поступившим в стационар. Характерными ультразвуковыми признаками диффузного аденомиоза были: неровность границы базального слоя эндометрия (у 70%); преобладание толщины задней стенки матки над передней на 15% и более (у 65%); наличие неоднородной эхогенности миометрия (у 61%); наличие кистозно-расширенных полостей в миометрии, содержащих мелкодисперсную взвесь (у 45%).

При узловом аденомиозе ультразвуковая картина характеризовалась наличием в миометрии очагов эхоплотности эндометрия округлой, овальной или глыбчатой формы без выраженной капсулы, что в 68% случаев было расценено как миома матки.

Округлая форма матки, увеличение ее переднезаднего размера и появление в миометрии накануне менструации аномальных кистозных полостей средним диаметром 3-5 мм не всегда свидетельствует о наличии аденомиоза.

По нашим данным, специфичность ультразвукового исследования в диагностике аденомиоза составила 68,2%, чувствительность – 70%. Основной причиной ложноотрицательных результатов были гиперпластические процессы эндометрия, миома матки, что практически не отличается от результатов других авторов (Стрижаков А.Н., Давыдов А.И., 2006; Bazot M. et al., 2006; Atri M. et al., 2007; Wolfman D.J., 2011).

Точность диагностики аденомиоза при помощи трансвагинального УЗИ, по данным М.М.Дамирова и соавт. (2010), Reuter K.L. (2011) не превышает 62-86%.

Информативность ультразвуковой диагностики аденомиоза напрямую зависит от разрешающей способности используемой аппаратуры, а также от вида исследования; значимая информация для диагностики аденомиоза может быть получена только при трансвагинальном исследовании. Именно использованием неодинаковой по уровню разрешения аппаратуры можно объяснить столь разнящиеся данные об эффективности эхографии при выявлении аденомиоза.

Другим методом исследования, наиболее часто применяемым для диагностики аденомиоза, является гистероскопия. В ходе выполнения диагностической гистероскопии признаки аденомиоза были обнаружены у 90 (75%) пациенток, а именно: эндометриoidные ходы в виде «глазков» темно-синюшного цвета или открытые, кровоточащие ходы (у 65%); неровный рельеф стенок полости матки в виде продольных или поперечных хребтов, разволокненных мышечных волокон (у 75%); выбухания стенок полости матки различной величины без четких контуров с эндометриoidными ходами (у 35%).

Недостаточная информативность гистероскопии связана с сочетанием аденомиоза и гиперплазии эндометрия, наличием узлового аденомиоза, а также с тем, что часть манипуляций проводится на фоне маточного кровотечения. Выполнение гистероскопии после выскабливания стенок полости матки неинформативным по причине развития отека и имбибиции кровью базального слоя эндометрия (Reuter K.L., 2011; Valentini A.L., 2011).

По нашим данным, специфичность гистероскопии в диагностике аденомиоза составила 81,2%, чувствительность – 75%, что также практически не отличается от результатов других авторов (Mechcatie E., 2008; Indman P.D., 2010; Resad P.P. et al., 2010).

По мнению Г.М. Савельевой и соавт. (2001), аденомиоз является наиболее трудным для гистероскопической диагностики видом патологии, с большим количеством ложноположительных и ложноотрицательных результатов, так как визуальные критерии крайне субъективны, а патогномичный признак - зияние эндометриoidных ходов с поступающим из них геморрагическим отделяемым - встречается крайне редко. Информативность метода зависит от морфологического варианта течения заболевания (диффузная или узловая форма), а также от сопутствующей патологии матки (гиперплазия эндометрия, миома матки и др.). В работе S.E. Song и соавт. (2011) отмечено, что при гистероскопии (как и при гистеросальпингографии) невозможно установить форму и степень распространения патологического процесса и это согласуется с полученными нами данными. По данным Т.Б. Макухиной (2008) низкая прогностическая ценность отрицательных результатов гистероскопии в диагностике аденомиоза

позволяет использовать ее при отрицательном заключении только в комплексе с другими дополнительными методами исследования.

Помимо этого, данный метод диагностики является инвазивным, требующим госпитализации, общего наркоза и является оперативным вмешательством, что может сопровождаться как хирургическими (перфорация матки, эмболия), так и анестезиологическими осложнениями, а также способствовать прогрессированию аденомиоза (Baggish M.S. et al., 2007; Van Kruchten P.M. et al., 2010; Polyzos N.P. et al., 2010).

Вышеизложенное ограничивает применение гистероскопии для диагностики аденомиоза и делает актуальным поиск новых неинвазивных методов, не уступающих по точности гистероскопии.

Таким образом, по нашим данным, на основании клинических и инструментальных методов исследования у 21% пациенток наблюдается гиподиагностика аденомиоза, в то же время, в тех случаях, где был заподозрен аденомиоз, имела место гипердиагностика данной патологии (15% диагностических ошибок). В связи с этим, поиск достоверных маркеров аденомиоза остается по-прежнему актуальной проблемой.

В последнее время как за рубежом, так и в нашей стране предпринимаются усилия для создания малоинвазивных скрининговых методов диагностики аденомиоза и определения степени его активности.

Для поиска в сыворотке крови новых маркеров различных заболеваний все чаще используются постгеномные методы анализа, среди которых протеомные технологии занимают ведущие позиции (Liu H. et al., 2008; Leiser A. et al., 2007).

На основании масс-спектрометрического профилирования (120 сывороток крови больных аденомиозом и 50 здоровых женщин контрольной группы) после их фракционирования на магнитных микрочастицах со слабой катионообменной поверхностью (MB-WCX) были построены классификационные модели с использованием двух математических алгоритмов (ГА и УНС).

При использовавшихся параметрах обработки масс-спектров в них воспроизводимо детектировали 96 пиков. После изучения вклада площадей отдельных пиков в классификационные модели, 3 пика были выделены как наиболее значимые для диагностики, т.к. их сочетание в классификационных моделях дает высокие значения специфичности и чувствительности: специфичность – 100%, чувствительность – 95,8%.

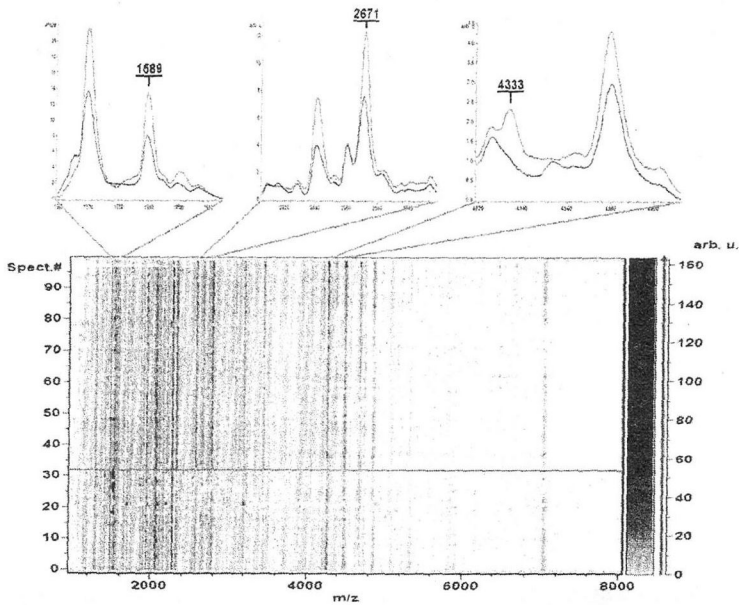


Рис. 2. Итоговый анализ масс-спектрометрических профилей образцов сывороток крови групп «аденомиоз» и «контроль».

Как видно на рис. 2, в построенную классификационную модель вошли 3 масс-спектрометрических пика, отобранные компьютерной программой как наиболее информативные, со значениями m/z : 1589; 2671; 4333, которые достоверно различаются в группах «аденомиоз» и «контроль».

При анализе сыворотки крови 36 больных аденомиозом из I группы после оперативного лечения (удаления матки) в среднем через 6 месяцев подобных пиков обнаружено не было и в соответствии с созданными классификационными моделями эти пациентки были отнесены к контрольной группе, что подтверждает характерность данных пиков именно для аденомиоза.

Помимо сравнения масс-спектрометрических профилей больных аденомиозом и здоровых женщин из контрольной группы, было проведено сопоставление данных пациенток со следующими диагнозами: миома матки ($n=60$), гиперплазия эндометрия ($n=50$), рак яичников I-IV стадии ($n=60$), рак тела матки ($n=50$).

Результаты профилирования больных с гиперплазией эндометрия оказались неудовлетворительными, показав значения чувствительности и специфичности – менее 50%, что не может использоваться в диагностике.

При проверке специфичности построенной модели по отношению к масс-спектрометрическим профилям образцов сыворотки крови пациенток с миомой матки, раком тела матки и раком яичников были получены значения: 93,8%, 90,5%, 100%, соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Значения специфичности модели «аденомиоз» по отношению к масс-спектрометрическим профилям образцов сыворотки крови пациенток с другими гинекологическими заболеваниями.

Заболевания	Специфичность модели «аденомиоз», %
Миома матки (n=60)	93,8
Рак тела матки (n=50)	90,5
Рак яичников (n=60)	100
ГПЭ (n=50)	< 50

Таким образом, построенная модель «аденомиоз» характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью не только в отношении здоровых пациенток, но и в отношении других гинекологических больных.

Нет однозначного ответа на вопрос, в какой связи находятся регистрируемые в сыворотке крови изменения пептидно-белковых паттернов с исследуемым патологическим процессом в организме. Предполагается, что эти изменения могут отражать реальные колебания концентраций белков и пептидов, напрямую ассоциированных с заболеванием, но с другой стороны, нельзя исключить и возможность их возникновения, например, в результате вызванных патологией отклонений в процессах свертывания крови *ex vivo* при получении из нее сыворотки (Polanski M. et al., 2006; Liotta L.A. et al., 2006; Liu H. et al., 2008).

С нашей точки зрения, диагностическая ценность найденных сигнатур не зависит от природы их возникновения при условии строгой воспроизводимости их появления в сыворотке крови больных. Ранее было показано, что процедура получения сыворотки, а именно длительность временной задержки до отделения сыворотки от образовавшегося сгустка в процессе свертывания крови не влияет на ее масс-спектрометрический профиль (Зиганшин Р.Х. с соавт., 2008).

Однако данный метод диагностики позволяет лишь дифференцировать одно заболевание от другого; определить степень активности с помощью масс-спектрометрии не представляется возможным. В то же время, по

данным ряда авторов, эффективность консервативного лечения аденомиоза зависит от степени его активности, определение которой на дооперационном этапе представляет большие трудности (Izawa M. et al., 2006; Surrey E.S. et al., 2007; Радзинский В.Е., Хамошина М.Б., 2009; Адамян Л.В., Сонова М.М., 2009).

Существующие на сегодняшний день методы определения функциональной активности аденомиоза, в основном, базируются на степени выраженности той или иной клинической симптоматики, либо на эффективности лечения, что во многом является субъективным и не позволяет выявлять ранние стадии заболевания (Томина О.В., 2011).

Диагностическая значимость оценки уровня концентрации цитокинов заключается в констатации самого факта ее повышения или понижения у данного больного с конкретным заболеванием, причем для оценки тяжести и прогноза течения заболевания целесообразно определять концентрацию как провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α , ИФ γ), так и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов в динамике. Можно предположить, что изменение соотношения про- и противовоспалительных цитокинов создает благоприятные условия для инвазии и последующего роста жизнеспособных фрагментов эндометрия.

Учитывая данные литературы о том, что при различных патологических состояниях наблюдается активация цитокинов, факторов роста и системы протеолиза, в своем исследовании мы уделили этому вопросу большое внимание (Girling G.E. et al., 2005; Ulukus E.S. et al., 2005; Yang J.N. et al., 2006; Inagaki M. et al., 2007; Gentilini D. et al., 2008).

При исследовании цитокинов, факторов роста и системы протеолиза мы выявили особенности распределения их значений у больных аденомиозом, а также оценили зависимость вида распределения от степени активности аденомиоза, что позволило прогнозировать течение заболевания.

В нашем исследовании было установлено, что при клинически активном аденомиозе более значительно повышается продукция провоспалительных цитокинов (ИЛ-6), противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10), факторов роста ЭФР, СЭФР, т.е. происходит активация процессов пролиферации и неоангиогенеза.

Проведенный твердофазный иммуноферментный анализ цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-8, ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО α , ИФ γ) и факторов роста (ЭФР, СЭФР) позволил выявить взаимосвязь между степенью активности аденомиоза и концентрацией ИЛ-6, ИЛ-10, ЭФР, СЭФР в сыворотке крови.

В то же время, существенного увеличения концентраций ИЛ-8, ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО α , ИФ γ у больных аденомиозом и в контрольной группе отмечено не было.

В работах других авторов отмечены изменения концентрации ИЛ-8, ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО α , ИФ γ при наружном генитальном эндометриозе в перитонеальной жидкости, а также в сыворотке крови (Ulukus E.S. et al., 2005; Yang J.N. et al., 2006; Бангура А.В., 2006). В то же время получены противоречивые данные при изучении цитокинового профиля у больных с гиперплазией эндометрия (Жданов А.В., Сухих Г.Т., 2003; Кисилев В.И., Лященко А.А., 2005).

Не исключено, что именно сочетание нескольких патологических процессов (в т.ч. доброкачественных заболеваний матки – миомы, гиперплазии эндометрия, аденомиоза) с преобладанием одного из них на основе конкурентных взаимодействий может вызывать ту или иную реакцию иммунной системы. По данным Л.В.Адамян и соавт. (2007) наиболее значимые нарушения в содержании ИЛ-8, ФНО α , ИФ γ зафиксированы при сочетании миомы матки и гиперплазии эндометрия.

В доступной нам литературе не было обнаружено данных о цитокиновом профиле у больных с изолированным аденомиозом, в отсутствии других доброкачественных заболеваний матки. Все исследования, касающиеся аденомиоза, проводились у больных с сочетанием данной патологии и миомы матки, гиперпластических процессов эндометрия и пр. Возможно, этим и объясняются полученные нами результаты – отсутствие изменений в концентрации ИЛ-8, ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО α , ИФ γ в сыворотке крови у больных с изолированным аденомиозом.

Полученные результаты исследования отдельных аспектов патогенеза изолированного аденомиоза представляются важными для расширения представлений о патогенезе данного заболевания и его особенностях.

Как было установлено, существуют две популяции Тх-клеток CD4+, различающихся по набору синтезируемых ими цитокинов, и от этого профиля зависит, какой из двух основных типов иммунного ответа будет реализован.

У человека Тх1-клетки, как правило, продуцируют ИФ γ , ФНО α , ИЛ-2 и участвуют в опосредованных клетками воспалительных реакциях. В противоположность Тх1-клеткам, клетки Тх2 синтезируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-10 и ИЛ-13 и усиливают образование антител, особенно IgE. В результате они стимулируют гиперпродукцию антител и аллергические реакции.

Полученные нами результаты изучения цитокинового профиля у больных аденомиозом позволяют сделать выводы о том, что Тх1-клетки, продуцирующие ИФ γ , ФНО α и ИЛ-2 не принимают непосредственного участия в патогенезе аденомиоза, в то время как Тх2-клетки, синтезирующие ИЛ-6 и ИЛ-10 играют значительную роль в развитии иммунных реакций при аденомиозе. Вероятнее всего, они играют основную защитную роль в организме против данной патологии.

По результатам нашего исследования средние значения концентрации в сыворотке крови цитокинов - ИЛ-6 и ИЛ-10, а также факторов роста – ЭФР, СЭФР в обеих группах пациенток с «активным» и «неактивным» аденомиозом оказались достоверно более высокими ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой (без аденомиоза).

Средние значения ИЛ-6, ИЛ-10, ЭФР, СЭФР у пациенток с «активным» аденомиозом оказались достоверно более высокими по сравнению с пациентками с «неактивным» аденомиозом ($p < 0,001$) – табл. 2.

Таблица 2

Средние значения исследуемых показателей в группах пациенток с «активным» аденомиозом (группа I), с «неактивным» аденомиозом (группа II) и в контрольной группе (группа III), пг/мл.

Группы больных	ИЛ-6	ИЛ-10	СЭФР	ЭФР
I (n=76)	376,2 ± 11,43	331,6 ± 10,23	417,4 ± 21,46	225,2 ± 5,15
II (n=44)	228,4 ± 7,22	181,3 ± 7,71	240,3 ± 8,94	175,1 ± 4,82
III (n=50)	35,08 ± 2,34	40,39 ± 2,95	69,72 ± 3,01	66,54 ± 3,68
Достоверность различий (p)	1-2,3 *** 2-3 ***			

Примечания: *** $p < 0,001$;

При анализе содержания ИЛ-6, ИЛ-10, VEGF и EGF в сыворотке крови у 36 больных аденомиозом через 6 месяцев после удаления тела матки, у 29 (80,6%) пациенток данные показатели не превышали нормативные значения, что указывает на роль данных цитокинов в патогенезе аденомиоза.

По результатам распределений иммунологических показателей были определены пороговые значения для каждого из них. Проведенный статистический анализ позволил достоверно различить две группы с «активным» и «неактивным» аденомиозом.

Иммунологические показатели выше пороговых концентраций преобладают у пациенток с «активным» аденомиозом, а ниже пороговых - достоверно чаще встречаются у больных с «неактивным» аденомиозом, что является статистически достоверным ($p < 0,01$).

Доля пациенток с уровнем ИЛ-6 в сыворотке крови больше 300 пкг/мл составила в группе с «активным» аденомиозом 80%, а с уровнем меньше 300 пкг/мл - 87,1% в группе с «неактивным» аденомиозом.

Доля пациенток с уровнем ИЛ-10 в сыворотке крови больше 250 пкг/мл составила в группе с «активным» аденомиозом 82,5%, а с уровнем меньше 250 пкг/мл - 84,8% в группе с «неактивным» аденомиозом.

Доля пациенток с уровнем СЭФР в сыворотке крови больше 300 пкг/мл составила в группе с «активным» аденомиозом 84,4%, а с уровнем меньше 300 пкг/мл - 80,8% в группе с «неактивным» аденомиозом.

Доля пациенток с уровнем ЭФР в сыворотке крови больше 200 пкг/мл составила в группе с «активным» аденомиозом 81,0%, а с уровнем меньше 200 пкг/мл - 84,3% в группе с «неактивным» аденомиозом.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что выделенные диапазоны иммунологических показателей, являются высоко информативными и могут рассматриваться как факторы риска «активности» аденомиоза.

Следует отметить, что чувствительность исследуемых иммунологических показателей уже достаточно высока для каждого из параметров и находится в диапазоне 80%-84,4% (специфичность - в диапазоне 80,8%-87,1%), однако комплекс таких показателей может оказаться более информативным, чем каждый из показателей в отдельности.

Принимая во внимание слова одного из основоположников отечественного учения об эндометриозе – профессора В.П.Баскакова – «лечить нужно только больных с клинически активным аденомиозом, а применение гормональных препаратов у пациенток со слабовыраженной клинической активностью и на начальных этапах заболевания может, наоборот, способствовать прогрессии аденомиоза», определение степени активности считается важным этапом в выборе тактики ведения пациенток с аденомиозом.

Разработанное в настоящем исследовании диагностическое правило, использующее факторы роста и другие цитокины, имеет высокую диагностическую точность - 86%.

Таким образом, анализ информативности изучаемых показателей, определенных в группах пациенток с «активной» и «неактивной» формой аденомиоза, свидетельствует о том, что значения ИЛ-6, ИЛ-10, ЭФР, СЭФР, превышающие пороговые значения (300 пкг/мл, 250 пкг/мл, 300 пкг/мл и 200 пкг/мл, соответственно), могут быть использованы в качестве факторов риска

прогрессирования аденомиоза. Данные результаты подтверждают целесообразность измерения концентраций ИЛ-6, ИЛ-10, ЭФР, СЭФР в плазме крови и использование полученного диагностического подхода для более надежной диагностики клинической активности аденомиоза, что позволит обосновать необходимость терапии в настоящий момент времени.

Полученные результаты могут стать важным дифференциально-диагностическим критерием оценки степени распространенности и активности течения аденомиоза. По данным ряда авторов, использование антиангиогенных препаратов, применяемых на сегодняшний день у онкологических больных, позволит наиболее эффективно воздействовать на патологический процесс при аденомиозе. Это направление может быть очень перспективным при создании нового поколения препаратов, блокирующих ангиогенез и свободных от большого числа побочных эффектов, существующих на сегодняшний день (Бурлев В.А. с соавт., 2006).

Активация врожденного иммунитета происходит при взаимодействии ТОЛЛ-подобных рецепторов (моноциты, макрофаги, микроглия) со своими лигандами. В большинстве случаев этими лигандами являются патогены, но часть ТОЛЛ-рецепторов (2, 4 подтипы) взаимодействуют с эндогенными лигандами при различной деструкции в органах и тканях (Клюшник Т.П., 2010).

Поэтому есть основания полагать, что при аденомиозе также активируется неспецифический иммунитет через TOLL-рецепторы в ответ на деструкцию в миометрии (Hirata T., 2005).

Одним из секретируемых нейтрофилами в ходе развития неспецифического иммунного ответа протеолитических ферментов, является ЛЭ. Попадая во внеклеточное пространство, ЛЭ расщепляет основное вещество, эластиновые и коллагеновые волокна сосудистых базальных мембран, выступая в ряде случаев в качестве мощного деструктивного фактора. Разрушая внеклеточный матрикс и эластазу сосудистого эндотелия, ЛЭ может способствовать миграции и трансформации различных клеток, активации ангиогенеза и метастазированию.

Обнаружена высокая специфическая активность ЛЭ у всех больных аденомиозом, при этом у больных «активным» аденомиозом уровень ЛЭ превысил нормативные значения и был достоверно выше, чем у больных «неактивным» аденомиозом: $329,4 \pm 5,71$ нмоль/(мин×мл) и $251,2 \pm 5,77$ нмоль/(мин×мл) ($p < 0,05$).

В контрольной группе активность ЛЭ не превышала норму и составила в среднем $- 178,1 \pm 2,59$ нмоль/(мин×мл) – рис. 3.

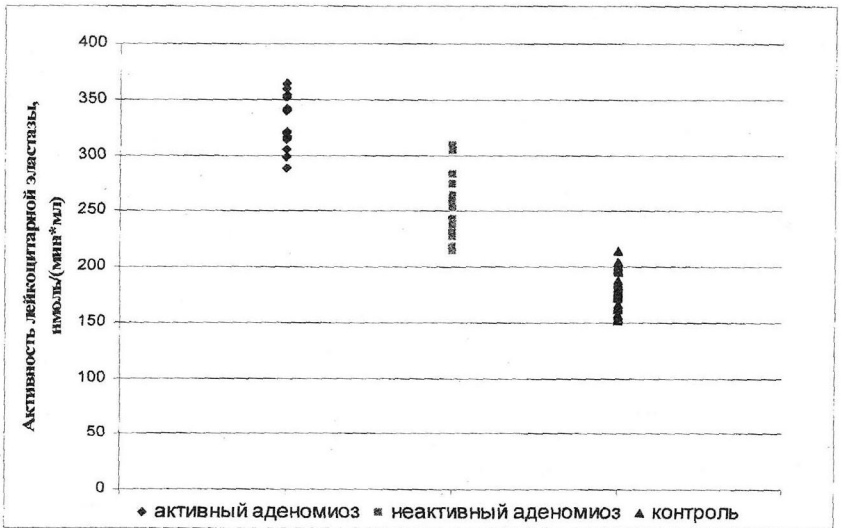


Рис. 3. Содержание ЛЭ в сыворотке крови больных аденомиозом

При отсутствии патологии активность ЛЭ не превышает границы нормы. Это может служить подтверждением отсутствия тех или иных патологических состояний, связанных с воспалительными или деструктивными реакциями, в том числе и с аденомиозом.

В норме активность ЛЭ составляет 150-200 нмоль/(мин×мл) – в соответствии с инструкцией к данному набору реагентов. Диапазон активности 201-250 нмоль/(мин×мл) интерпретируют как слабое повышение, а диапазон 251-300 нмоль/(мин×мл) – как умеренное. Повышение активности ЛЭ выше 300 нмоль/(мин×мл) принято считать выраженным признаком патологии.

У пациентов со слабым повышением активности ЛЭ возможно предположить наличие в крови (в невысокой концентрации) факторов, вызывающих активацию нейтрофилов. Такая слабая активация неспецифического иммунитета свидетельствует о наличии воспалительных и/или деструктивных реакций. Это характерно для больных на начальной стадии аденомиоза, который протекает без выраженной клинической симптоматики.

При умеренном повышении активности ЛЭ имеет место более значительная активация неспецифического иммунитета, что является подтверждением наличия у них процесса, связанного с местными воспалительными реакциями. Локализация этого процесса может быть

установлена при более тщательном клиническом обследовании пациента и проведении дополнительных биохимических анализов.

Слабое и умеренное повышение ЛЭ (от 202,3 до 296,2 нмоль/(мин×мл) характерно для «неактивного» аденомиоза.

При выраженном повышении концентрации ЛЭ имеет место значительная активация неспецифического иммунитета, что является отражением активно текущего патологического процесса, связанного с деструктивными воспалительными реакциями. Высокий уровень активности ЛЭ может свидетельствовать о том, что аденомиоз сопровождается воспалительным процессом, интенсивность которого коррелирует с обширностью и глубиной поражения, и, как следствие, с тяжестью клинической симптоматики.

Такое повышение активности ЛЭ чаще всего сопровождает тяжелый деструктивный процесс в миометрии, вызванный аденомиозом у больных «активным» аденомиозом.

Проведенные исследования подтвердили факт активации системы протеолиза и ангиогенеза при аденомиозе, что совпадает с мнением Т.Ю.Гавриловой (2007), которая указала на возможность индуцирования ангиогенеза за счет высвобождения протеаз, особенно ЛЭ, факторов роста и цитокинов.

У пациентов с различными неинфекционными заболеваниями выявлены также и другие признаки активации неспецифического иммунитета, такие как изменение активности, синтезирующегося в печени $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора ($\alpha 1$ -ПИ) и увеличение концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови. Активность $\alpha 1$ -ПИ в норме составляет 28-32 ИЕ/мл.

Параллельное с ЛЭ увеличение активности $\alpha 1$ -ПИ, направленное на ограничение деструктивных реакций, характеризует сохранность антипротеолитического потенциала; сниженная, по сравнению с контролем активность $\alpha 1$ -ПИ является неблагоприятным прогностическим фактором в плане дальнейшего прогрессирования деструктивного процесса.

Активность ЛЭ и $\alpha 1$ -ПИ сыворотки крови отражают степень активации определенных реакций врожденного иммунитета, а также состояние антипротеолитического (компенсаторного потенциала).

В работе Адамян Л.В. и соавт. (2005) продемонстрирована зависимость концентрации ЛЭ в крови и в перитонеальной жидкости от степени распространенности аденомиоза, что определялось морфологически, однако взаимосвязь с клинической картиной и со степенью тяжести аденомиоза изучена не была.

При изучении функциональной активности $\alpha 1$ -ПИ была отмечена широкая вариабельность данного показателя в диапазоне от 16 до 63 ИЕ/мл. Показано, что в тех случаях, когда повышение активности ЛЭ не сопровождалось адекватным компенсаторным ростом активности $\alpha 1$ -ПИ ($30,75 \pm 2,48$ ИЕ/мл), патологический процесс протекал достоверно более активно. С другой стороны, при значениях $\alpha 1$ -ПИ выше нормативных (более 32 ИЕ/мл) на фоне повышенной ЛЭ существует резерв антипротеолитического потенциала, блокирующего физиологические эффекты, осуществляемые эластазой и другими протеазами – у этих больных течение аденомиоза было менее агрессивное и значения $\alpha 1$ -ПИ составили $44,29 \pm 1,81$ ИЕ/мл ($p < 0,05$) – рис. 4.

При анализе содержания ЛЭ и $\alpha 1$ -ПИ в сыворотке крови у 36 больных аденомиозом через 6 месяцев после удаления тела матки, у 31 (86,1%) пациентки данные показатели не превышали нормативные значения, что свидетельствует о взаимосвязи аденомиоза и нарушений в системе врожденного иммунитета.

По результатам распределений указанных показателей были определены пороговые значения для $\alpha 1$ -ПИ так, что оба диапазона (меньше или больше порогового значения) оказались достоверно различающимися две группы с «активным» и «неактивным» аденомиозом.

Исследуемые показатели выше пороговых концентраций преобладают у пациенток в группе с «неактивным» аденомиозом, а ниже пороговых – достоверно чаще встречаются в группе с «активным» аденомиозом: доля пациенток с уровнем $\alpha 1$ -ПИ больше 35 ИЕ/мл составила в группе с «неактивным» аденомиозом 89,3%, а с уровнем $\alpha 1$ -ПИ меньше 35 ИЕ/мл – составила 87,1% в группе с «активным» аденомиозом ($p < 0,05$). Диагностическая точность определения порогового значения $\alpha 1$ -ПИ составляет 89%.

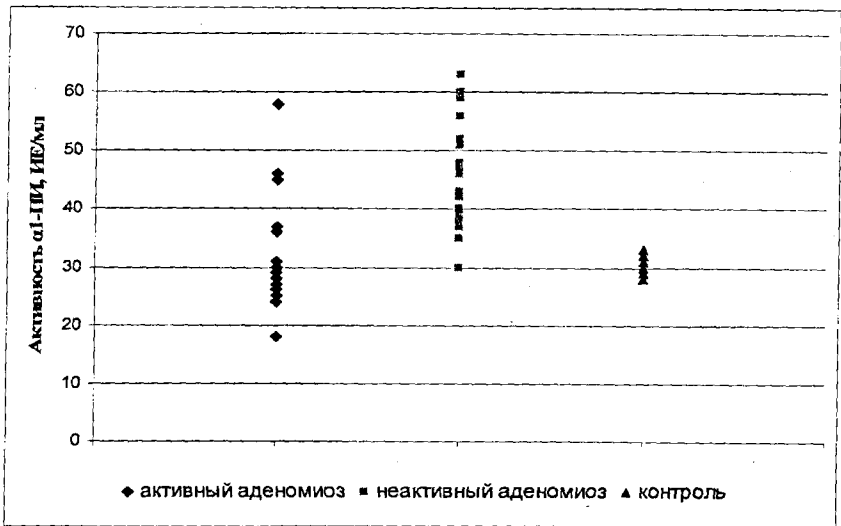


Рис. 4. Содержание $\alpha 1$ -ПИ в сыворотке крови больных аденомиозом

Полученные результаты свидетельствуют о том, что выделенный диапазон $\alpha 1$ -ПИ, является высоко информативным и может рассматриваться в качестве фактора риска активности течения аденомиоза, определяющего прогноз заболевания.

По нашим данным, у всех больных аденомиозом достоверно повышено содержание в сыворотке крови ЛЭ, по сравнению с контрольной группой. Параллельно с этим, в группе больных «активным» аденомиозом достоверно не хватает резерва антипротеолитического потенциала, что проявляется в более выраженной клинической картине заболевания и тяжелом течении.

Таким образом, комплексное определение вышеперечисленных показателей неспецифического иммунитета позволяет оценить активность патологического деструктивного процесса в миометрии (аденомиоза), уточнить степень тяжести заболевания, а также выраженность компенсаторного потенциала. Это может способствовать своевременному назначению адекватных способов терапии, а также оценке ее эффективности.

Проведенное исследование открывает пути для возможно более эффективного патогенетического лечения аденомиоза с помощью экзогенных ингибиторов протеаз, а также гепатопротекторов с целью увеличения синтеза $\alpha 1$ -ПИ.

На сегодняшний день за рубежом существует препарат «Эглин-С», выделенный из *Hirudo medicinalis*, который снижает концентрацию ЛЭ в крови и успешно применяется при лечении хронических воспалительных заболеваний легких, суставов и пр.(Desalites A., 2006). Многовековая традиция лечения пиявками сегодня получает научное подтверждение эффективности при лечении многих острых и хронических заболеваний, в том числе и аденомиоза. Изученные механизмы патогенеза аденомиоза объясняют эффективность применения гирудотерапии при лечении данного заболевания.

В заключение следует отметить, что больные аденомиозом требуют особого отношения на каждом этапе обследования и лечения. Разработанный в настоящем исследовании алгоритм неинвазивного обследования пациенток с подозрением на аденомиоз позволяет с высокой точностью проводить раннюю диагностику заболевания, определять степень активности течения аденомиоза и своевременно выбирать адекватные методы лечения, что улучшит прогноз заболевания и качество жизни пациенток (рис. 5).

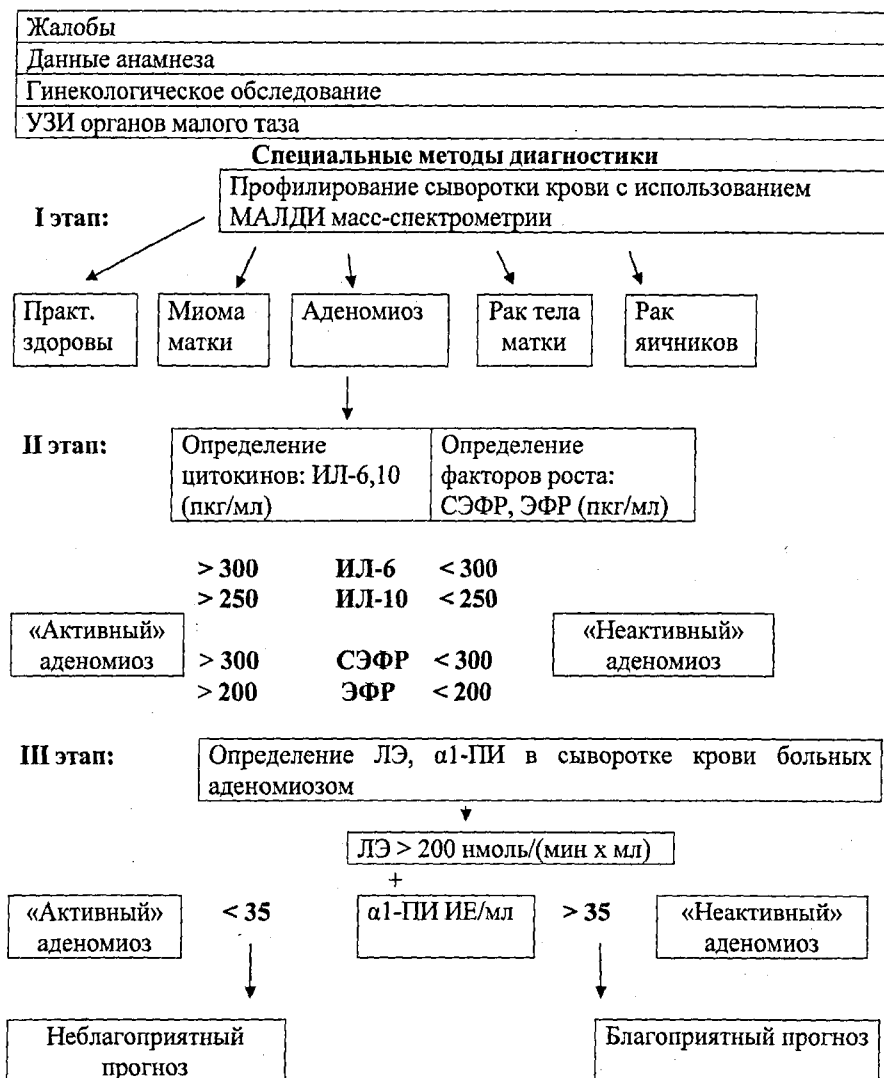


Рис. 5. Алгоритм обследования больных аденомиозом

ВЫВОДЫ

1. Информативность применяемых методов диагностики аденомиоза остается недостаточной: клиническая диагностика – чувствительность 51,7%, специфичность 59%; УЗИ – чувствительность 70%, специфичность 68,2%; гистероскопия – чувствительность 75%, специфичность 81,2%, и только их сочетание повышает достоверность исследования до 79,2% чувствительности и 85% специфичности; данные методы не дают возможности прогнозирования, достоверной верификации процесса и его активности.
2. Существующие постгеномные методы диагностики, основанные на протеомном профилировании сыворотки крови с использованием МАЛДИ масс-спектрометрии, позволяют увеличить точность диагностики аденомиоза до 95,8% чувствительности и 100% специфичности.
3. Протеомное профилирование сыворотки крови с использованием МАЛДИ масс-спектрометрии позволяет проводить дифференциальную диагностику аденомиоза с другими доброкачественными и злокачественными гинекологическими заболеваниями: специфичность для миомы матки – 93,8%, рака тела матки – 90,5%, рака яичников – 100%.
4. Увеличение содержания цитокинов – интерлейкина-6 и интерлейкина-10 в сыворотке крови больных аденомиозом свидетельствует об активации продукции про- и противовоспалительных цитокинов на системном уровне и положительно коррелирует со степенью активности заболевания. Пороговыми значениями для интерлейкина-6 является 300 пкг/мл, для интерлейкина-10 – 250 пкг/мл: превышение данных концентраций является признаком активности течения аденомиоза. Точность диагностики составляет 86%.
5. Повышенные концентрации факторов роста – сосудисто-эндотелиального и эпидермального в сыворотке крови больных аденомиозом свидетельствуют об активации процессов неоваскуляризации и пролиферации на системном уровне, а также положительно коррелируют со степенью тяжести аденомиоза. Пороговыми значениями для сосудисто-эндотелиального фактора роста является 300 пкг/мл, для эпидермального фактора роста – 200 пкг/мл: превышение данных концентраций является проявлением активности течения аденомиоза. Точность диагностики составляет 86%.
6. Т-хелперы 1 типа не принимают непосредственного участия в патогенезе аденомиоза, в то время как Т-хелперы 2 типа, синтезирующие интерлейкин-6 и интерлейкин-10 определяют

эффективный иммунитет при аденомиозе. Использование этих различий возможно для дифференциальной диагностики патологических процессов.

7. Протеолитический фермент – лейкоцитарная эластаза и $\alpha 1$ -протеиназный ингибитор являются важными диагностическими и прогностическими маркерами при аденомиозе. Уровень $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора в сыворотке крови характеризует выраженность компенсаторного (антипротеолитического) потенциала и определяет прогноз заболевания. Пороговым значением концентрации для $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора является 35 ИЕ/мл: значения выше пороговых определяют благоприятный прогноз, ниже – неблагоприятный прогноз течения аденомиоза. Диагностическая точность метода составляет 89%.
8. Алгоритм обследования женщин с подозрением на аденомиоз, основанный на протеомном профилировании сыворотки крови с использованием МАЛДИ масс-спектрометрии, а также определении пороговых значений иммунологических показателей в сыворотке крови позволяет диагностировать (со 100% специфичностью и 95,8% чувствительностью), определять степень активности процесса (с точностью 86%), прогнозировать (с точностью 89%) и оценивать эффективность лечения аденомиоза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Диагностика аденомиоза, основанная на протеомном профилировании сыворотки крови с использованием МАЛДИ масс-спектрометрии, позволяет максимально точно устанавливать диагноз «аденомиоз» со 100% специфичностью и 95,8% чувствительностью, а также дифференцировать его с другими доброкачественными и злокачественными заболеваниями органов малого таза (миома матки, рак тела матки, рак яичников).
2. При обследовании больных аденомиозом с целью объективной оценки активности течения заболевания, а значит определения тактики ведения, целесообразно проводить иммунологическое исследование с определением цитокинов (интерлейкинов-6, 10), факторов роста (сосудисто-эндотелиального, эпидермального), системы врожденного иммунитета (лейкоцитарной эластазы, $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора).
3. Определение показателей системы врожденного иммунитета – лейкоцитарной эластазы и $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора с помощью спектрофотометрического метода в динамике предлагается использовать для прогнозирования, ранней диагностики аденомиоза и выбора тактики ведения больных.

4. Использование предложенного алгоритма диагностики целесообразно не только с клинических позиций, но и с экономических, т.к. позволяет снизить затраты лечебного учреждения за счет более быстрой и достоверной диагностики. Сыворотка крови, в которой определяют пептидные маркеры, может храниться и транспортироваться из любых отдаленных районов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Сорокина А.В., Оразмурадова Л.Д., Паенди ф.А. Генетические детерминанты аденомиоза с позиций доказательной медицины // **Вестник РУДН**, Серия Медицина Акушерство и гинекология. – 2009. - №5. – С. 197-207.
2. Радзинский В.Е., Сорокина А.В., Морозов С.Г., Жилина Н.В. Цитокины в сыворотке крови больных аденомиозом // **Вестник РУДН**, Серия Медицина, Акушерство и гинекология. – 2010. - №5. – С. 129-134.
3. Сорокина А.В., Тотчиев Г.Ф., Токтар Л.Р. Современные подходы к диагностике аденомиоза // **Вестник РУДН**, Серия Медицина, Акушерство и гинекология. – 2010. - №5. – С. 181-191.
4. Радзинский В.Е., Сорокина А.В., Жилина Н.В., Морозов С.Г. Иммунологические детерминанты аденомиоза с позиции доказательной медицины // **Вестник РУДН**, Серия Медицина Акушерство и гинекология. – 2010. - №6. – С. 138-145.
5. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П. Потенциальные протеомные маркеры аденомиоза в сыворотке крови // **Врач**. – 2010. - №1. – С. 61–64.
6. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П. Потенциальные биомаркеры аденомиоза: состояние проблемы и возможные перспективы // **Врач**. – 2010. - №8. – С. 76–79.
7. Морозов С.Г., Сорокина А.В., Жилина Н.В. Роль факторов роста и цитокинов в патогенезе аденомиоза // **Акушерство и гинекология**. – 2010. - №2. – С. 15-17.
8. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Морозов С.Г., Жилина Н.В. Факторы роста в сыворотке крови больных аденомиозом // Доктор. Ру, Часть 1, Гинекология. – 2010. - №7 (58). – С.7-9.
9. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П. Протеомные маркеры аденомиоза // Материалы IV Регионального научного форума «Мать и дитя» 28-30 июня 2010, Екатеринбург, С.273.

10. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Морозов С.Г. Роль факторов роста и цитокинов в диагностике аденомиоза // Материалы XI Всероссийского научного форума «Мать и дитя», 28.09-1.10.2010, Москва, Россия, С.515-516.
11. Sorokina A.V., Radzinsky V.E., Ziganshin R.H., Arapidi G.P. The new approach to early diagnosis of adenomyosis // Abstract of the 5th Congress of the World Association of Reproductive Medicine, 10-13.10.2010, Moscow, Russia, P.96-97.
12. Sorokina A.V., Radzinsky V.E., Ziganshin R.H., Arapidi G.P. Peptidomic analysis of blood serum from patients with adenomyosis // Abstracts of the 13th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology and Infertility, 4-7.11.2010, Berlin, Germany, poster.
13. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П. Алгоритм диагностики аденомиоза с использованием неинвазивных методов исследования // **Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И.Пирогова.** – 2011. – №1, том 6. – С.124-128.
14. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П. Новый подход к диагностике аденомиоза с использованием протеомного профилирования сыворотки крови // **Доктор. Ру, Часть 1, Гинекология.** – 2011. – №9 (68). – С.5-8.
15. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Сохова З.М., Корсикова Т.А., Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П., Говорун В.М. Потенциальные протеомные маркеры доброкачественных заболеваний матки в сыворотке крови // **Акушерство и гинекология.** – 2011. – №3. – С.47-52.
16. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Зиганшин Р.Х., Мустафина Е.А., Баринов В.В., Арапиди Г.П. Масс-спектрометрия – новый подход в диагностике аденомиоза и рака тела матки // **Опухоли женской репродуктивной системы.** – 2011. – №2. – С.65-72.
17. Sorokina A., Radzinsky V., Khamoshina M., Totchiev G., Ziganshin R., Arapidi G., Morozov S. The modern view to diagnostic of adenomyosis // Abstracts of the 11th World Congress on Endometriosis, 4-7.09.2011, Montpellier, France, poster.
18. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Морозов С.Г. Роль системы врожденного иммунитета в патогенезе аденомиоза // Материалы Всероссийской конференции с международным участием по гинекологической эндокринологии и менопаузе «Гормонально-ассоциированные заболевания репродуктивной системы: от новых

научных концепций к тактике ведения», 8-11.11.2011, Москва, Россия, С.42.

19. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Морозов С.Г. Изменения показателей неспецифического иммунитета при аденомиозе // **Патологическая физиология.** – 2011. - № 4. – С. 8-12.
20. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Морозов С.Г., Олимпиева С.П., Киликовский В.В. Критерии оценки активности аденомиоза // **Молекулярная медицина.** – 2011. - №6. – С. 12-17.
21. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П. Поиск пептидных маркеров гинекологических заболеваний в сыворотке крови с использованием МАЛДИ масс-спектрометрии // **Вестник РУДН, Серия Медицина, Акушерство и гинекология.** – 2011. - №6. – С. 25-29.
22. Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П. Аденомиоз – болезнь загадок и предположений. Перспективы постгеномных исследований // **Доктор Ру, Часть 2, Эндокринология** – 2011. - №9(68). – С. 18-22.
23. Андреева Е.Н., Хамошина М.Б., Сорокина А.В., Плаксина Н.Д. Эндометриоз: новые горизонты гормонотерапии // **Доктор Ру, Часть 2, Эндокринология.** – 2011. - №9(68). – С. 9-13.
24. Радзинский В.Е., Сорокина А.В., Гус А.И., Семятов С.М., Бутарева Л.Б. Учебное пособие «Эндометриоз // Изд-во Российского университета дружбы народов, 2011. – 62 с.

Патогенез, прогнозирование и постгеномная диагностика аденомиоза

СОРОКИНА АННА ВЛАДИМИРОВНА

(Россия)

В работе предлагается использовать неинвазивный двухступенчатый подход к ранней диагностике аденомиоза. Обследовано 120 пациенток с диагнозом «аденомиоз» различной степени тяжести, 50 практически здоровых пациенток составили контрольную группу. На первом этапе проводилось протеомное профилирование сыворотки крови с использованием МАЛДИ масс-спектрометрии, что позволило дифференцировать пациенток с аденомиозом и контрольную группу с чувствительностью и специфичностью приближающимся к 100%. Данный метод диагностики позволяет дифференцировать аденомиоз с другими доброкачественными и злокачественными гинекологическими заболеваниями – миомой матки, раком тела матки и раком яичников.

На втором этапе проводилось исследование цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10) и факторов роста (EGF, VEGF) в сыворотке крови с использованием

иммуноферментного анализа, что позволило выявлять активные формы аденомиоза и тем самым определять прогноз течения заболевания.

С использованием спектрофотометрического анализа изучено состояние системы неспецифического иммунитета - лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) и $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора ($\alpha 1$ -ПИ), что позволило выявить существенную активацию системы врожденного иммунитета у всех больных аденомиозом. Показано, что чем выше содержание ЛЭ в сыворотке крови, тем активнее протекает аденомиоз. По данным концентрации в сыворотке крови $\alpha 1$ -ПИ, определяющего степень активности аденомиоза, возможно определять прогноз заболевания.

Выявлены информативные диапазоны значений перечисленных иммунологических показателей и на их основе создан диагностический алгоритм для оценки степени активности аденомиоза.

Полученные данные важны для определения прогноза заболевания и уточнения тактики ведения больных.

Pathogenesis, prediction and postgenomic diagnostics of adenomyosis

SOROKINA ANNA VLADIMIROVNA

(Russia)

The using of non-invasive methods are offered to early diagnostics of adenomyosis. Comparative MALDI mass spectrometry profiling of blood serum samples from patients with verified adenomyosis ($n=120$) as well as from a control group of healthy women ($n=50$) has been carried out. Mass spectrometry profiles demonstrated sensitivity and specificity close to 100% for the detection of adenomyosis. Besides that, this method can lead to differentiation adenomyosis and other gynecological diseases - leiomyoma, endometrial cancer and ovarian cancer.

On the second stage we discovered the production of cytokines (IL-6, IL-10) and growth factors (EGF, VEGF) by an enzyme-linked immunosorbent assay from women with adenomyosis. We observed that levels of IL-6, IL-10, EGF, VEGF are correlated with the severity of the disease and prognosis. Informative levels of immune markers were found and diagnostic algorithm for detection the degree of adenomyosis activities was made.

The investigation of leukocytic elastase (LE) and $\alpha 1$ -proteinase inhibitor ($\alpha 1$ -PI) from patients with different stage adenomyosis and in control group was found activation innate immunity system in all the patients with adenomyosis. The degree of LE activity is a prevalence rate of adenomyosis. The degree of $\alpha 1$ -PI activity is correlated with antiproteolytic potential that blocks the effects shown by LE. It can lead the prognose of disease and timely treatment.

On the basis of detected pathogenic features of adenomyosis a differential attitude was worked out for formation the risk groups of adenomyosis progression. Principles of early diagnosis of adenomyosis were formulated.

Отпечатанно ООО «ИНТЕРАЛ-СИТИ»
125362, г.Москва, Подмосковная ул., д.3 оф. 17
Тираж 100 экз. Ризография
Сдано в печать 16.11.2011