

Цель исследования: разработка научно обоснованного метода диагностики и дифференциальной диагностики наружного генитального эндометриоза на основании одновременного комплексного исследования протеиназно-ингибиторного потенциала сыворотки крови, перитонеальной жидкости.

Полученные результаты: разные стадии эндометриоза характеризуются различным состоянием протеолитических процессов на локальном уровне: при изолированном поражении яичников и I стадии протеолитическая активность перитонеальной жидкости компенсирована; при III стадии выявлена резкая активация протеолитических процессов на фоне напряжения ингибиторного компонента системы, что отражает механизмы явлений, протекающих в брюшной полости при инвазивном росте эндометриозных гетеротопий. В качестве диагностических маркеров III стадии эндометриоза могут быть использованы параметры протеолитической системы, определяемые методом ферментативной активности и активности α_2 -макроглобулина в перитонеальной жидкости, который характеризуется высокой специфичностью (92 %) и прогностической ценностью (92 %).

Введение

Несмотря на значительные достижения в исследовании проблемы эндометриоза, до настоящего времени нет единой точки зрения на его этиологию и патогенез. Современная концепция развития наружного генитального эндометриоза связывает его развитие с ретроградным забросом менструальной крови в брюшную полость и последующей имплантацией на брюшине малого таза и яичниках [2, 4]. Развитие наружного эндометриоза происходит в условиях повышенного ангиогенеза и сниженной способности клеток эндометрия к апоптозу при их возможном высоком инвазивном потенциале таких компонентов межклеточного матрикса, как коллаген, ламинины, протеогликаны. В связи с этим представляют интерес исследования при наружном генитальном эндометриозе регуляторов процессов ремоделирования компонентов внеклеточного матрикса, в первую очередь, протеолитической системы.

Протеолитические ферменты играют важную роль в обмене веществ, имеют регуляторное значение, являясь одним из механизмов биологического надзора функций органов и тканей организма [15, 16]. Нарушение динамического равновесия между активностью протеиназ и их ингибиторов ведет к патологическим состояниям. Поиск в этом направлении открывает большие возможности в подходах к методам диагностики и лечения патологии, возникновение которой сопряжено с нарушениями в системе протеолиза.

Имеющиеся публикации, посвященные роли протеолитической системы при генитальном эндометриозе, ограничиваются, как правило, исследованием одного класса или вида протеиназ, зачастую без учета активности их эндогенных ингибиторов [17, 18, 19]. В других работах нет сопоставления интенсивности протеолиза в тканях и биологических жидкостях [18, 20, 21]. Исследования протеиназно-ингибиторного потенциала при генитальном эндометриозе посвящены, в основном, его исследованиям при внутреннем [19, 22], редко при наружном эндометриозе [17].

Диагностика перитонеальных форм генитального эндометриоза представляет большую сложность, требует комплексного обследования и осуществляется с помощью экоскопических и инвазивных эндоскопических методов исследования, гистологического исследования биоптатов эндометриозных гетеротопий, зачастую предполагает использование сложных, не всегда доступных и дорогостоящих методик. Среди используемых в настоящее время методов диагностики наружного генитального эндометриоза основные компоненты протеолитической системы не были использованы в качестве диагностических маркеров данного заболевания.

Таким образом, проблема определения диагностической значимости компонентов протеолитической системы с учётом комплексного исследования протеиназно-ингибиторного потенциала различных биологических жидкостей при различных стадиях распространения перитонеального эндометриоза остается актуальной и требует своего дальнейшего разрешения.

Цель исследования – разработать научно обоснованный метод диагностики и дифференциальной диагностики наружного (перитонеального) эндометриоза на основании одновременного комплексного исследования протеиназно-ингибиторного потенциала сыворотки крови, перитонеальной жидкости.

Для достижения поставленной цели были определены задачи:

1. Определить протеиназно-ингибиторный потенциал сыворотки крови у больных с I и III стадией распространения наружного генитального эндометриоза, эндометриоидными кистами яичников, а также доброкачественными опухолями яичников и хроническим сальпингитом.
2. Установить зависимость между состоянием протеолитических процессов в перитонеальной жидкости и стадией распространения наружного генитального эндометриоза.
3. Определить диагностическую и прогностическую значимость параметров протеолиза в перитонеальной жидкости у больных наружным генитальным эндометриозом.

Материалы и методы исследования

В работу включено 46 больных с перитонеальным эндометриозом. Всем больным было выполнено лапароскопическое вмешательство. По его результатам нами выделены следующие стадии заболевания, согласно классификации Американского общества фертильности (1985): I стадия распространения эндометриоза – 13 больных (28, 3%) , III стадия – 22 больных (47,8%). В отдельную группу выделены 11 (23,9%) женщин с эндометриоидными кистами яичников (ЭКЯ), которые подлежали оперативному лечению как опухолевидные образования яичников без других локализаций патологических очагов в области малого таза. Группы сравнения представлены 11 пациентками с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ) и 15 больными с хроническим сальпингитом (ХС) в стадии ремиссии, которым лапароскопическое вмешательство было выполнено по поводу бесплодия, обусловленного непроходимостью маточных труб. В контрольную группу включены 43 здоровые фертильные женщины, у 19 из них была выполнена добровольная хирургическая стерилизация. Средний возраст пациенток в исследуемых группах составил $34 \pm 0,5$ лет. Все исследования проводились на базе гинекологических отделений ВГКРД № 2 и Отделенческой клинической больницы на ст. Витебск Белорусской железной дороги г. Витебска, ЦНИЛ ВГМУ в период с 2003 по 2007 г.

Для реализации поставленных задач в работе были использованы следующие методы исследований: биохимические, гистологические, клинические, радиоиммунологические, социологические (анкетирование), сонографические, эндоскопические. Статистический анализ полученных в ходе исследования фактических данных проводился с использованием пакета программ STATISTICA 6.0. Достоверность различий между выборками для количественных признаков

оценивали с использованием методов непараметрической статистики (Mann-Whitney U test), данные представлены в виде Me (25 %; 75 %), где Me – медиана признака, 25 % и 75 % – интерквартильный размах. Использован метод непараметрического корреляционного анализа – ранговая корреляция по Спирмену (r). Различия во всех случаях рассматривались как статистически достоверные при уровне значимости $P < 0,05$. Диагностическую и прогностическую значимость основных компонентов протеолитической системы перитонеальной жидкости у больных наружным генитальным эндометриозом определяли на основании составления четырехпольных таблиц с последующим построением характеристических кривых для различных точек разделения [11].

Результаты исследования

При проведении анализа показателей протеиназно-ингибиторного потенциала сыворотки крови у больных с различными стадиями распространения эндометриоза выявлен дисбаланс ингибиторного компонента системы (Рисунок 1).

Так, при I и III стадии эндометриоза отмечено снижение содержания α_2 -макроглобулина (МГ) в сравнении со здоровыми женщинами в среднем на 21% ($P < 0,05$). Кроме того, при III стадии заболевания медианные значения содержания ингибитора цистеиновых протеиназ (ИЦП) были на 41,8% ниже контрольных значений. Общая протеолитическая активность (ОПА) сыворотки крови при эндометриозе не отличалась от ее уровня у здоровых женщин. У больных с ДОЯ и ХС установлена низкая ОПА сыворотки крови (ниже контрольных значений на 51,8 % и 40,6 %, соответственно). У больных с ХС на фоне низкой протеолитической активности выявлено низкое содержание МГ (ниже контрольных значений на 26,9 %).

Поскольку достоверных различий между исследуемыми показателями протеолитической системы сыворотки крови у больных с различными стадиями распространения эндометриоза не установлено, использование их для диагностики и дифференциальной диагностики перитонеального эндометриоза нецелесообразно, это послужило основанием для исследования протеиназно-ингибиторного потенциала перитонеальной жидкости (Рисунок 2).

Установлено, что при III стадии эндометриоза ОПА перитонеальной жидкости была в 4 раза выше, чем у здоровых женщин, у больных с I стадией распространения эндометриоза и ДОЯ ($P < 0,05$).

Установлено, что при III стадии эндометриоза медианные значения содержания МГ были на 63,9 % выше, чем у здоровых женщин и на 37,8% выше, чем у больных с хроническим сальпингитом и ДОЯ. Содержание ИЦП было снижено на 33,3 % у больных с I стадией эндометриоза в сравнении со здоровыми женщинами.

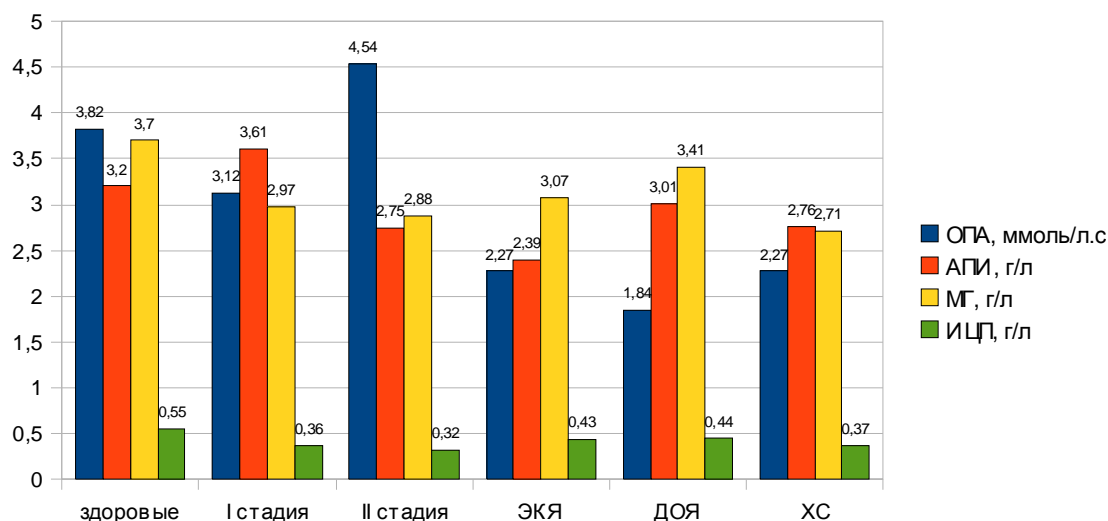
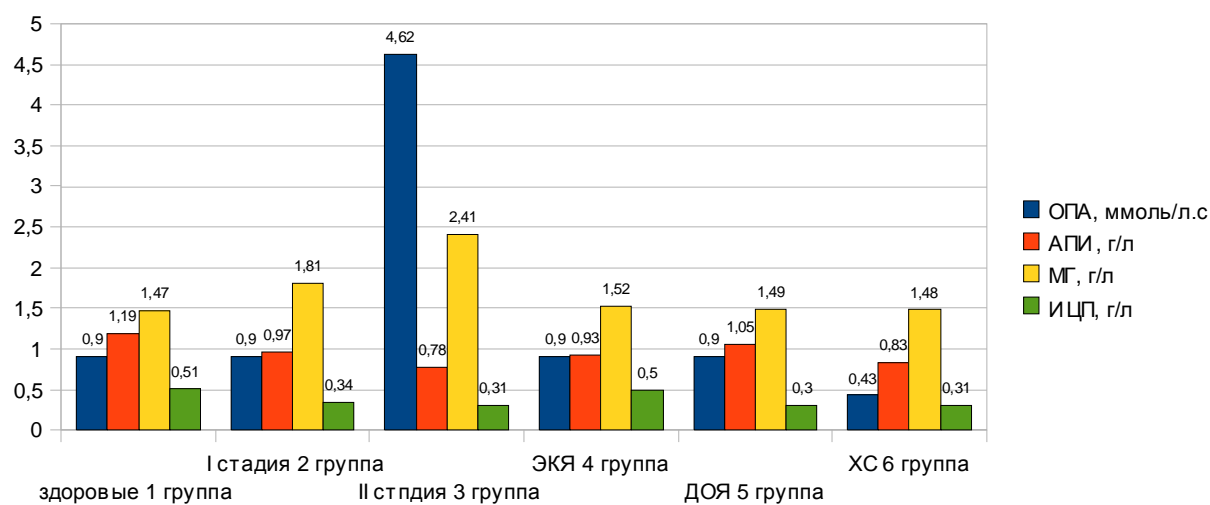


Рисунок 1

Протеолитическая активность сыворотки крови у здоровых женщин и больных эндометриозом

*Примечание – * – вероятность справедливости нулевой гипотезы в сравнении с группой*



соответствующего номера ($P < 0,05$)

Рисунок 2

Протеолитическая активность перитонеальной жидкости у здоровых женщин и больных эндометриозом

*Примечание – * – вероятность справедливости нулевой гипотезы в сравнении с группой соответствующего номера ($P < 0,05$)*

При анализе корреляционных связей (КС) между протеиназами и ингибиторами перитонеальной жидкости установлено, что у больных с I и III стадией эндометриоза такие связи отсутствуют. У больных с ЭКЯ, вероятно, основная часть протеолитической активности перитонеальной жидкости представлена цистеиновыми протеиназами, и регулирующее влияние на ОПА оказывает ИЦП ($r = -0,77, P < 0,05$).

При исследовании КС между изучаемыми компонентами протеолиза сыворотки крови и перитонеальной жидкости установлено, что у здоровых женщин протеиназы и ингибиторы сыворотки крови и перитонеальной жидкости функционируют как целостная система, аналогичные параметры которой взаимозависимы (ИЦП сыв. – ИЦП пер. $r = 0,80$, ОПА сыв. – ОПА пер. $r = -0,60, P < 0,05$). При I и III

стадии эндометриоза зависимость активности факторов протеолиза в перитонеальной жидкости от аналогичных параметров сыворотки крови полностью теряется, что может отражать усиление автономности функционирования данной системы в перитонеальной жидкости.

Данные о наличии изменений протеолитического баланса в перитонеальной жидкости при наружном генитальном эндометриозе послужили основанием для определения их диагностической и

прогностической значимости. При оценке диагностической и прогностической значимости параметров протеиназно-ингибиторного потенциала перитонеальной жидкости при различных стадиях наружного генитального эндометриоза установлено, что уровни ОПА > 2,65 ммоль/л·с и МГ > 1,92 г/л могут быть применены в качестве диагностических критериев III стадии распространения эндометриоза (Таблица 1).

Таблица 1

Операционные характеристики диагностического теста III стадии распространения наружного генитального эндометриоза

Наименование показателя	ДС, %	ДЧ, %	ПЦПР, %	ПЦОР, %	Количество ложноположительных результатов	Количество ложноотрицательных результатов
ОПА > 2,65 ммоль/л·с	92	65	65	92	1	7
МГ > 1,92 г/л	92	72	69	93	2	5

При уровне ферментативной активности более 2,65 ммоль/л·с специфичность (ДС) диагностического метода составила 92%, чувствительность (ДЧ) – 65 %. Предложенный диагностический метод имеет высокую прогностическую ценность отрицательного результата (ПЦОР) – 92%, при удовлетворительном показателе прогностической ценности положительного результата (ПЦПР) в 65 %.

Кроме ОПА, в качестве диагностического критерия может быть использован и МГ, так как при содержании ингибитора более 1,92 г/л установлена высокая ДС – 92 %. Прогностическая ценность отрицательного результата превышала 90 %, а ДЧ и

ПЦПР соответственно составили 72 и 69%.

Ингибиторный потенциал перитонеальной жидкости может быть использован и в качестве дифференциально-диагностического маркера III стадии эндометриоза и хронического сальпингита в стадии ремиссии (Таблица 2).

Содержанию ингибитора МГ более 1,72 г/л соответствуют высокий уровень ДС и ПЦПР – 83 и 79% соответственно. Кроме того, ПЦОР результата составила 67 % при ДЧ равной 60 %. Перитонеальная жидкость в необходимом объеме 0,5 мл может быть получена при диагностической пункции брюшной полости через задний свод влагалища.

Таблица 3

4 – Операционные характеристики дифференциально-диагностического теста III стадии эндометриоза и хронического сальпингита

Наименование показателя	ДС, %	ДЧ, %	ПЦПР, %	ПЦОР, %	Количество ложноположительных результатов	Количество ложноотрицательных результатов
МГ > 1,72 г/л	83	60	79	67	5	3

Предложенные нами диагностические критерии могут быть использованы не только в сочетании с другими диагностическими тестами, но и в некоторых случаях (при невозможности проведения сложных инструментальных вмешательств) – самостоятельно, с целью выявления заболевания, а также в качестве критерия эффективности проводимого лечения и стойкости ремиссии.

Выводы

1. У больных наружным генитальным эндометриозом активность протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови не зависит от стадии распространения эндометриозидного процесса и не отличается от уровня таковой у больных доброкачественными опухолями яичников и хроническим сальпингитом. Разные стадии распространения наружного генитального эндометриоза характеризуются различным состоянием протеолитических процессов на

локальном уровне: при эндометриодных кистах яичников и I стадии распространения эндометриоза протеолитическая активность перитонеальной жидкости компенсирована; при III стадии выявлена резкая активация протеолитических процессов на фоне напряжения ингибиторного компонента системы, что отражает механизмы явлений, протекающих в брюшной полости при инвазивном росте эндометриодных гетеротопий.

2. В качестве маркеров диагностики и дифференциальной диагностики III стадии распространения наружного генитального эндометриоза могут быть использованы параметры протеолитической системы, определяемые методом ферментативной активности и активности α_2 -макроглобулина в перитонеальной жидкости, который характеризуется высокой специфичностью (92 %) и прогностической ценностью отрицательного результата (92 %). Предложенный метод обеспечивает доступный способ диагностики эндометриоза в сравнении с общепринятым интраоперационным эндовизуальным.

Литература

1. *Руководство по эндокринной гинекологии* / Е.М. Вихляева [и др.]; под ред. Е. М. Вихляевой. – М.: Мед. информ. агентство, 1997.–768с.
2. Sampson, J.A. *Peritoneal endometriosis due to dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity* / J.A. Sampson // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1927. – N 14. – P. 422–469.
3. Веремеенко, К.Н. *Протеолиз в норме и при патологии* / К.Н. Веремеенко, О.П. Голобородько, А.И. Кизим – Киев: Здоров'я, 1988. – 199 с.
4. Neurath, H. *Proteolytic enzymes, part and future* / H. Neurath // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – Vol. 96. – P. 10962–10963.
5. Герасимов, А.М. *Особенности протеазной и атипичной активности крови у женщин с наружным эндометриозом* / А.М. Герасимов // *Клиническая лаб. диагностика.* – 2005. – № 3. – С. 14–16.
6. Берегова, Ю.П. *Діагностика та профілактика початкових форм ендометріозу у жінок в умовах агресивних факторів навколишнього середовища* / Ю.П. Берегова, К.Ф. Ковшар // *Зб. наук. праць / Асоціація акушерів-гінекологів України; под науч. ред. А.Я. Сенчук.* – Київ, 2006. – С. 44–47.
7. Адамян, А.В. *Система протеолиза в генезе аденомиоза* / А.В. Адамян [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2005. – № 5. – С. 22–25.
8. Дивакова, Т.С. *Органосохраняющее лечение больных при сочетании миомы матки и эндометриоза гениталий: дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.01* / Т.С. Дивакова. – Витебск, 2000. – 199 с.
9. *Fibrinolysis in the peritoneal fluid during adhesions, endometriosis and ongoing pelvic inflammatory disease* / G. Edelstam [et al.] // *Inflammation.* – 1998. – Vol. 4, N 22. – P. 341–351.
10. Барановская, Е.И. *Роль протеолиза в циклической трансформации эндометрия и патогенезе внутреннего эндометриоза матки, методы коррекции: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01* / Е.И. Барановская; Минский мед. институт. – Минск., 1995. – 20 с.
11. Реброва, О.Ю. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA* / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2003. – 312 с.