

Диагностическое значение маркеров ангиогенеза в биологических жидкостях у больных с аденомиозом

В.А. БУРЛЕВ, Н.А. ИЛЬЯСОВА, Е.Д. ДУБИНСКАЯ, Т.Ю. ГАВРИЛОВА, Л.В. АДАМЯН

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН им. В.И. Кулакова, Москва

Изучено содержание ангиогенных маркеров в сыворотке крови, перитонеальной жидкости и цервикальной слизи у больных с аденомиозом. Наиболее значимым для определения стадии аденомиоза является локальное повышение содержания сосудисто-эндотелиального фактора роста (СЭФР-А) и 1-го растворимого рецептора к нему (рСЭФР Р-1) в цервикальной слизи. Исследование уровня СЭФР-А и рСЭФР Р-1 в цервикальной слизи предложено для скрининга и неинвазивной диагностики стадии заболевания, выбора тактики ведения пациенток и оценки эффективности консервативного лечения в широкой клинической практике.

Ключевые слова: аденомиоз, паракринные заболевания, про- и антиангиогенная активность.

Аденомиоз — заболевание, встречающееся преимущественно у женщин репродуктивного возраста и характеризующееся бессистемным прорастанием эндометриальных желез и стромы в подлежащий миометрий [1, 11].

Анализ литературы [6], посвященной аденомиозу, показывает, что имеющиеся данные относительно его частоты в структуре гинекологической заболеваемости, поражения различных отделов матки и сочетанной с ним патологии носят противоречивый характер. Все известные классификации аденомиоза построены на морфологическом принципе, отражающем глубину распространения гетеротопических очагов в миометрии. Вместе с тем точность обнаружения гетеротопического эндометрия наиболее достоверным (морфологическим) методом не превышает 70—85%.

В настоящее время причины развития аденомиоза до сих пор остаются неизвестными. По некоторым данным [9], основным механизмом его развития считается прорастание и инвагинация эндометрия в подлежащий миометрий. Установлено, что источником формирования эктопических очагов у больных с эндометриозом является базальный слой эндометрия, способный формировать архиметриальные компоненты (эпителиальные и стромальные клетки, а также компоненты перистромальной мышечной ткани) и отслаивающийся во время менструации, подобно функциональному слою. По данным литературы [8], отмечаются значительные изменения эутопического эндометрия, выражающиеся в повышении пролиферативного потенциала и способности к инфильтративному росту, что играет также немаловажную роль в инвазии. Обнаружена повышенная

экспрессия генов, контролирующих биосинтез сосудисто-эндотелиальных факторов роста (СЭФР-А и СЭФР-С) в эутопическом эндометрии, что подтверждает первичное наличие повышенного ангиогенного потенциала в эндометрии у больных с эндометриозом [10].

Эти данные совпадают с нашими результатами относительно изменения ангиогенного потенциала эутопического эндометрия, а также изменения ангиогенного баланса при ретроцервикальном эндометриозе [3—5].

В настоящее время наиболее точным методом диагностики аденомиоза является гистологический, но только при условии его правильного технического исполнения. Трансвагинальная эхография является основным методом инструментальной диагностики в поликлинических условиях. Вместе с тем данные литературы [6] об информативности ультразвукового исследования в выявлении аденомиоза достаточно разноречивы (от 20 до 94%). Во многом это связано с тем, что диагностика заболевания базируется на определении косвенных эхографических признаков и субъективном восприятии полученных данных.

В последние годы благодаря совершенствованию качества оптических систем, оборудования и инструментов значительно повысилась точность гистероскопической диагностики аденомиоза. Однако до сих пор аденомиоз признается наиболее сложным для эндоскопической диагностики видом патологии, с большим количеством ложноположительных и ложноотрицательных результатов [7].

В связи с вышеизложенными фактами целью настоящего исследования явилось расширение возможностей неинвазивной диагностики аденомиоза с учетом накопления данных об изменении ангиогенного баланса при пролиферативных заболеваниях женской репродуктивной системы.

Бурлев Владимир Алексеевич, E-mail: vbourlev@mail.ru

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование была включена 21 больная с аденомиозом, которым была проведена гистерэктомия лапароскопическим доступом. Большинство обследованных больных (83%) находились в позднем репродуктивном и пременопаузальном периоде. Средний возраст менархе составил $13,2 \pm 0,9$ года, менструации у большинства установились сразу, были регулярными; длительность менструального цикла до заболевания аденомиозом составляла 24–31 день (в среднем $26,8 \pm 1,8$ дня).

Особенностями репродуктивного анамнеза явились большое число аборт — искусственных и самопроизвольных (64,3%), бесплодие (8,3%), внематочная беременность (1,3%), а также малое число (1–2, или 71,2%) родов.

Соматический анамнез обследованных пациенток был отягощен наличием двух–трех детских инфекционных заболеваний — у 17 (81%), имели место хронический гастрит, колит, холецистит, пиелонефрит, цистит — у 38,5%.

Из гинекологических заболеваний преобладали дисфункциональные маточные кровотечения (63%), воспалительные заболевания матки и придатков (49,3%), кольпиты, бактериальный вагиноз (49%).

Наиболее частыми жалобами у пациенток были боли внизу живота и пояснице, носящие в основном циклический характер и усиливающиеся накануне или во время менструации (63%), перименструальные длительные мажущие кровяные выделения из половых путей (48%).

К моменту обследования длительность клинического проявления заболевания в среднем составила $3,3 \pm 0,5$ года (колебания от 0,5 года до 9 лет). Ни одной из пациенток не проводилась гормональная терапия в течение 4 мес до исследования, женщины не использовали внутриматочные средства контрацепции, не были беременными и не лактировали в течение предшествующих 4 мес. Образцы крови и цервикальной слизи были получены от одних и тех же больных.

При ультразвуковом исследовании предварительно была установлена форма аденомиоза, что окончательно было подтверждено гистологическим исследованием.

Контрольную группу составили 10 пациенток, которым производилась стерилизация маточных труб лапароскопическим доступом. Эндометриоз в этой группе исключался после тщательного обследования висцеральной и париетальной брюшины на предмет наличия гетеротипических эндометриоидных очагов. Ультразвуковое исследование матки и гистероскопическое исследование позволили исключить у пациенток этой группы аденомиоз.

У всех пациенток было получено информированное согласие на использование крови и цервикальной слизи для проведения исследований.

Кровь для исследования получали из кубитальной вены в стандартных условиях утром в день операции. Перитонеальную жидкость собирали во время лапароскопии с соблюдением правил предотвращения контаминации кровью. Цервикальную слизь собирали при проведении лапароскопии путем аспирации содержимого цервикального канала с использованием микрошприца. Образцы цервикальной слизи из шприца переносились в стерильные пробирки и хранились, как и все биологически активные жидкости, при -70°C до момента исследования.

Содержание (в пг/мл) СЭФР-А, 1-го растворимого рецептора к СЭФР (рСЭФР Р-1), 2-го растворимого рецеп-

тора к СЭФР (рСЭФР Р-2), ангиогенина, ангиопоэтина-2 в сыворотке крови, перитонеальной жидкости и цервикальной слизи проводили с помощью иммуноферментного анализа с применением стандартных наборов (R&D systems, США). Проведение реакции и расчет результатов осуществлялся в стандартных условиях и согласно рекомендациям производителя.

Для анализа полученных результатов использовали статистические компьютерные программы SPSS (версия 10.0.7) и Statistica (версия 6.0) for Windows. Достоверность различий полученных результатов определяли с помощью парного либо непарного *t*-теста Стьюдента. Результаты исследования представлены как средние $\pm SD$ ($M \pm SD$). Различия между группами считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ показал, что из общего числа больных с аденомиозом у 9 была 1–2-я стадия заболевания и у 12 — 3–4-я стадия. Важно отметить, что среди больных с 1–2-й и 4-й стадией распространенности аденомиоза не встретилось ни одной больной с очаговой и узловой формами заболевания. У больных с 3-й стадией аденомиоза были выявлены как диффузная форма (50%), так и очаговая (33,3%) и узловатая (16,7%). Сочетание аденомиоза с миомой матки наблюдалось у 5 больных с 1–2-й стадией и у 6 — с 3–4-й.

В таблице представлены данные о содержании ангиогенных маркеров в сыворотке крови, перитонеальной жидкости и цервикальной слизи больных с аденомиозом. Как видно, у больных с 3–4-й стадией аденомиоза по сравнению с больными с 1–2-й стадией заболевания достоверно повышено содержание ангиогенных промоуторов СЭФР-А и рСЭФР Р-1 как в сыворотке крови, так и в цервикальной слизи и в перитонеальной жидкости. Наиболее значимым является повышение содержания СЭФР-А в цервикальной слизи — в 20 раз, при этом в перитонеальной жидкости — в 5 раз и в сыворотке крови — только в 2 раза.

Также важным является изменение содержания рСЭФР Р-1 с увеличением стадии аденомиоза: повышение в 5,5 раза в цервикальной слизи и в 2 раза в сыворотке крови у больных с 3–4-й стадией по сравнению с больными 1–2-й стадией аденомиоза. Остальные изученные маркеры оказались статистически незначимыми для дифференцировки стадий заболевания, за исключением ангиопоэтина-2, содержание которого снижается в сыворотке крови практически в 2 раза при увеличении тяжести и распространенности аденомиоза.

Полученные результаты подтверждают наличие пара- и аутокринных нарушений ангиогенеза при аденомиозе, наиболее выраженных на локальном уровне. Эти данные не противоречат нашим результатам относительно изменений ангиогенеза при эн-

Содержание про- и антиангиогенных маркеров (в пг/мл) в сыворотке крови, цервикальной слизи (ЦС) и перитонеальной жидкости (ПЖ) у больных с аденомиозом ($M \pm SD$)

Маркер	Больные с 1—2-й стадией ($n=9$)			Больные с 3—4-й стадией ($n=12$)		
	сыворотка	ЦС	ПЖ	сыворотка	ЦС	ПЖ
СЭФР-А	130,4±32,9	60,5±32,5	58,8±37,5	240,7±144,9*	1174,3±376,5*	301,8±200,7*
рСЭФР Р-1	44,6±27	21,3±12,2	14,9±8,9	125,1±77,8*	114,8±89,1*	14,2±13,1
рСЭФР Р-2	1177,9±491,1	69±31,1	1911,9±242,5	1153,6±700,7	75,6±30,1	1829,4±311,4
Ангиогенин	1575±456,8	243,3±216,6	285,8±273,4	1144±382,3	416,2±365,1	315,7±277,7
Ангиопоэтин-2	1073±369	38,8±28,7	732,5±221,6	578,8±242,1*	52,9±37,1	835,8±365,9

Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с больными с 1—2-й стадией.

дометриозе [2], в частности, его ретроцервикальной форме [5]. Соответствующие изменения содержания ангиогенных маркеров в перитонеальной жидкости по сравнению с цервикальной слизью свидетельствуют об отсутствии прямого контакта растущей в матке эндометриозной ткани с брюшной полостью и наличии таковых соотношений с полостью матки и содержимым цервикального канала.

Цервикальная слизь достаточно широко используется для диагностики инфекционных и онкологических заболеваний женской половой сферы. Шейка матки анатомически является частью матки, а цервикальный канал — естественное сообщение не только между полостью матки и влагалищем, но также, косвенно, между брюшной полостью через маточные трубы и влагалищем. Логично предположить, что с учетом анатомических особенностей изменения ангиогенеза в эутопическом эндометрии, миометрии и перитонеальной жидкости при аденомиозе должны повлиять на содержание локальных маркеров ангиогенеза в цервикальной слизи. Если даже допустить, что изменения ангиогенеза в цервикальном канале не являются локальными, то в случае «стекания» под действием гравитации секрета однослойного призматического эпителия тела матки зна-

чения ангиогенных маркеров, измеренные в цервикальной слизи, будут изменяться пропорционально стадии аденомиоза.

Таким образом, наиболее значимым для дифференцировки стадии заболевания при аденомиозе является локальное повышение содержания СЭФР-А и рСЭФР Р-1 в цервикальной слизи, что доказывает наибольшую диагностическую значимость именно этой биологической жидкости. Результаты проведенного исследования показывают, что чем больше степень ангиогенного сдвига в цервикальной слизи, тем больше степень распространенности аденомиоза. Более того, полученные данные доказывают наличие ангиогенного дисбаланса прежде всего в эутопическом эндометрии.

Метод исследования содержания СЭФР-А и рСЭФР Р-1 в цервикальной слизи может быть предложен как скрининговый и неинвазивный для уточнения стадии заболевания, определения тактики ведения пациентов и оценки эффективности консервативного лечения в широкой клинической практике. В дальнейшем, с учетом полученных данных, будут разработаны новые критерии для классификации и прогнозирования течения заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамян Л.В., Кулаков В.И. Эндометриозы. Руководство для врачей 1998.
2. Бурлев В.А., Волков Н.И., Стыгар Д.А. и др. Значение факторов роста в патогенезе эндометриоза. Вестн Рос асс акуш и гинекол 1999;1:51—56.
3. Бурлев В.А., Ильясова Н.А., Волков Н.И. и др. Плотность микрососудов и ангиогенная активность в эутопическом эндометрии у больных с перитонеальной формой эндометриоза. Пробл репрод 2004;6:51—56.
4. Бурлев В.А., Ильясова Н.А., Дубинская Е.Д. и др. Про- и антиангиогенная активность у больных с ретроцервикальным эндометриозом. Пробл репрод 2005;2:75—81.
5. Бурлев В.А., Гаспарян С.Г., Павлович С.П., Адамян Л.В. Клинико-диагностическое значение сосудио-эндотелиального фактора роста при ретроцервикальном эндометриозе. Пробл репрод 2002;6:44—47.
6. Дамиров М.М. Аденомиоз: клиника, диагностика и лечение. Монография. М—Тверь 2002.
7. Савельева Г.М., Бреусенко В.Г., Капушева Л.М. Гистероскопия. М 2001;176.
8. Dmowski W.P., Ding J., Shen J. et al. Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis. Hum Reprod 2001;16:1802—1808.
9. Leyendecker G., Herbertz M., Kunz G., Mall G. Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium. Human Reprod 2002;17:10:2725—2736.
10. Takehara Mikio, Ueda Masatsugu, Yamashita Yoshiki et al. Vascular endothelial growth factor A and C gene expression in endometriosis. Human Pathol 2004;35:11:1369—1375.
11. Parrott E., Butterworth M., Green A. et al. Adenomyosis — A Result of Disordered Stromal Differentiation. Am J Pathol 2001;159:623—630.