

ЛИТЕРАТУРА

1. Амвросьева Т.В., Поклонская Н.В., Аринович А.С. // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2017. – Т.6, №4. – С.471–479.
2. Жаворонок С.В. // Медицинский журнал: Сборник статей / БГМУ; Под ред. А.Н. Стожарова. – Минск, 2017. – С.132–134.
3. Зновец Т.В., Жаворонок С.В., Барановская Е.И., Арабей А.А. // Здравоохранение – 2016. – №5. – С.9–15.
4. Ющик Н.Д., Цыганова Е., Знайко О. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2009. – №8. – С.12–18.
5. Ali G., Kumar M., Bali S., Wadhwa W. // Indian J. Nephrol. – 2001. – Vol.11. – P.70–72.
6. Arankalle V.A., Chobe L.P. // Vox Sang. – 2000. – Vol.79, N2. – P.72–74.
7. Colson P., Kaba M., Moreau J., Brouqui P. // Journal of General Virology. – 2009. – Vol.45, N4. – P.269–271.
8. Dalton H.R., Bendall R.P., Keane FE., et al. // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol.361, N10. – P.1025–1027.
9. Deniel C., Coton T., Brardjanian S., et al. // Journal of General Virology. – 2011. – Vol.51, N3. – P.202–204.
10. Fourquet E., Mansuy J.M., Bureau C., et al. // Journal of General Virology. – 2010. – Vol.48, N1. – P.73–74.
11. Gupta D.N., Smetana H.F. // Indian J. MedRes. – 1957. – Vol.45. – P.101–113.
12. Huang F, Li Y., Yu W., et al. // Hepatology. – 2016. – Vol.64, N2. – P.350–359.
13. Kamar N., Garrouste C., Haagsma E.B., et al. // Gastroenterology. – 2011. – Vol.140, N5. – P.1481–1489.
14. Kamar N., Selves J., Mansuy J.M., et al. // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol.358, N8. – P.811–817.
15. Kumar Acharya, S., Kumar Sharma P., Singh R., et al. // J. Hepatol. – 2007. – Vol.46, N3. – P.387–394.
16. Matsubayashi K., Nagaoka Y., Sakata H., et al. // Transfusion. – 2004. – Vol.44, N6. – P.934–940.
17. Reviews. Gastroenterology and Hepatology. (electronic journal). Availableat: <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2017.150>: accessed 12.03.2018.
18. Smith D.B., Simmonds P. (2014) // Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. Journal of General Virology, vol. 95, pt. 10. – P. 2223–2232.
19. Vander Eijk A.A., Pas S.D, Cornelissen J.J., et al. // Curr. Opin. Infect. Dis. – 2014. – Vol.27, N4. – P.309–315.
20. Versluis J., Pas S.D., Agteresch H.J., et al. // Blood. – 2013. – Vol.122, N6. – P.1079–1086.
21. World Health Organization. Hepatitis E Factsheet (electronic journal). 2016. – Availableat: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/en>: Accessed. 20.06.2017.

Поступила 17.07.2018 г.

Возможности доклинической диагностики генитального эндометриоза у женщин с бесплодием с использованием иммуногистохимической оценки морфотипа эутопического эндометрия и математического моделирования

Алтанец Е.Н.¹, Медведев М.В.²

¹Городской родильный дом №1, Днепр, Украина

²Днепропетровская медицинская академия, Украина

Altanets E.N.¹, Medvedev M.V.²

¹University Maternity Hospital №1, Dnipro, Ukraine

²Dnipropetrovsk Medical Academy, Ukraine

Possibilities of preclinical diagnosis of genital endometriosis in women with infertility using immunohistochemical assessment of the morphotype of eutopic endometrium and mathematical modeling

Резюме. Обследовано 64 женщины репродуктивного возраста с бесплодием. Всем пациенткам в пролиферативной фазе менструального цикла выполнена Pipell-биопсия эндометрия, при которой была изучена экспрессия рецепторов эстрогена, прогестерона, MMP-9, bcl-2 и Ki-67. С целью решения задачи прогнозирования наружного генитального эндометриоза (НГЭ) была построена компьютерная математическая модель с использованием пакета статистических программ STATISTICA v12 (StatSoft Inc., USA). В статье представлена частота верификации наружного генитального эндометриоза у женщин с бесплодием при аномальном и нормальном морфотипе эутопического эндометрия. Построенная математическая модель показала, что наличие морфотипа, характерного для эндометриоза, позволяет с высокой вероятностью предположить наличие последнего.

Ключевые слова: эутопический эндометрий, эндометриоз, бесплодие, иммуногистохимические маркеры.

Медицинские новости. – 2018. – №12. – С. 67–70.

Summary. 64 women of reproductive age with infertility were examined. All patients in the proliferative phase of the menstrual cycle performed a Pipell-endometrium biopsy in which the expression of estrogen receptors, progesterone, MMP-9, bcl-2 and Ki-67 was studied. In order to solve the problem of predicting external genital endometriosis (EGE), a computer-aided mathematical model was built using the statistical software package STATISTICA v12 (StatSoft Inc., USA). The article presents the frequency of verification of external genital endometriosis in women with infertility in the abnormal and normal morphotype of eutopic endometrium. The constructed mathematical model has shown that the presence of a morphotype characteristic of endometriosis allows us to assume the presence of the latter with a high probability.

Keywords: eutopic endometrium, endometriosis, infertility, immunohistochemical markers.

Meditsinskije novosti. – 2018. – N12. – P. 67–70.

Эндометриоз – одно из самых распространенных и загадочных заболеваний современной гинекологии. Одной из проблем эндометриоза является существенная задержка диагностики его ранних форм. По данным глобального многоцентрового мирового исследования, на 5 континентах в 16 странах задержка диагностики заболевания составляет в среднем до 7 лет (WERF, 2010). Имеются убедительные данные, что даже в экономически развитых странах при наличии высоких медицинских технологий и высокого жизненного уровня диагностика эндометриоза проводится не на должном уровне. Между тем, важность ранней диагностики эндометриоза невозможно переоценить. Ведь раннее начало лечения имеет гораздо большую эффективность как в отношении стабилизации прогрессирования заболевания, так и в отношении сохранения фертильности (Адамян Л.В., 2013).

По литературным данным, попытки поиска высокочувствительных и специфичных методов диагностики учеными предпринимались неоднократно. В настоящее время ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза является высокоинформативным методом диагностики эндометриоза и эндометриозных кист яичников (Moore J. et al., 2002). В то же время, по данным разных авторов, чувствительность этого метода для диагностики эндометриоза колеблется в довольно широких пределах – от 44% до 99% (Адамян Л.В. и соавт., 2006). Также следует отметить, что сонография не имеет значения для диагностики перитонеальных форм эндометриоза. За последние годы накоплены данные о возможности использования неинвазивного метода магнитно-резонансной томографии (МРТ) для диагностики распространенных форм эндометриоза и эндометриозных кист яичников. Преимуществом этого метода является высокая разрешающая способность контрастирования мягких тканей (Гаврилова Т.Ю., 2002). МРТ позволяет оценить характер патологического процесса, его локализацию, взаимосвязь с соседними органами, что особенно важно при выраженном рубцово-спаечном процессе с вовлечением различных органов и анатомических структур малого таза [7]. В то

же время, согласно руководству по диагностике и лечению эндометриоза ESHRE (Dunselman G.A. et al., 2014), не существует данных о преимуществе диагностических возможностей метода МРТ по сравнению с лапароскопией. По-прежнему золотым стандартом в диагностике эндометриоза считается визуальный осмотр малого таза и брюшной полости при проведении лапароскопии с последующим гистологическим исследованием эндометриозных очагов.

Особенно актуален вопрос диагностики эндометриоза при бесплодии. Несвоевременное лапароскопическое лечение женщин с бессимптомными формами эндометриоза приводит к отсрочке наступления беременности, прогрессированию болезни и значительному снижению фертильности [4].

В последнее время все чаще появляются сообщения о том, что эндометриоз отличается от такового у здоровых женщин по структуре, пролиферативной активности, состоянию процесса апоптоза, способности к инвазии (компоненты системы протеолиза и ангиогенеза), состоянию рецепторного аппарата, экспрессии различных генов [1, 5, 6, 8–10].

В связи с этим с 2014 по 2017 год нами были изучены 32 образца эндометрия и 27 образцов эндометриозных гетеротопий у женщин репродуктивного возраста с бесплодием и верифицированным во время лапароскопии наружным генитальным эндометриозом. Критериями включения явились: отсутствие гормонального лечения в течение 6 месяцев до операции, отсутствие патологии эндометрия, клинически значимой миомы, что требует миомэктомии. Критериями исключения были: онкологические и аутоиммунные заболевания, воспалительные заболевания, ожирение, нарушение менструального цикла.

Все пациентки прооперированы на базе гинекологического отделения Областной клинической больницы им. Мечникова города Днепра (Украина). Отделение является клинической базой кафедры акушерства и гинекологии Днепропетровской медицинской академии. Используя иммуногистохимический метод, нами были исследованы: экс-

прессия рецепторов эстрадиола (ER) и прогестерона (PGR), экспрессия маркера пролиферации Ki-67, клеточной инвазии MMP-9 и ингибитора апоптоза bcl-2 в эндометрии. Полученные данные сопоставлены с образцами эндометрия контрольной группы, в составе которой 21 пациентка, обратившаяся для выполнения стерилизации с использованием лапароскопического доступа. Эндометриоз в этой группе исключался после тщательного исследования висцеральной и париетальной брюшины на наличие гетеротопических эндометриозных очагов.

Нами были установлены статистически значимые различия иммуногистохимических характеристик эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом от нормального эндометрия ($p < 0,05$ по всем показателям): повышенная экспрессия ER – в железистом эпителии (преимущественно 2+/3+), сниженная экспрессия PGR – в строме (1+/2+), повышенная экспрессия bcl-2 (2+/3+) и MMP-9 (2+/3+). Установлены были также достоверные различия для маркера Ki-67, где в железистом эпителии эндометрия с наружным генитальным эндометриозом он составил $44,81 \pm 2,86$. Это позволило нам включить указанный критерий в качестве дополнительного в диагностический комплекс иммуногистохимических маркеров с целью повышения точности последнего. Таким образом, выявленные тенденции и статистически значимые зависимости ($p < 0,05$) позволили нам сформировать так называемый аномальный иммунофенотип эндометрия для женщин с наружным генитальным эндометриозом и бесплодием [2, 3].

В связи с отсутствием в настоящее время достоверной неинвазивной или малоинвазивной диагностики доклинических форм наружного генитального эндометриоза у женщин с бесплодием было предложено исследование комплекса иммуногистохимических маркеров в эндометрии, полученного при помощи Pipell-биопсии.

Цель исследования – оценить частоту верификации диагноза наружного генитального эндометриоза при нормальном и аномальном морфотипах эндометрия у женщин

Таблица 1 Верификация наружного генитального эндометриоза в подгруппах

Показатель		Эндометриоз диагностирован, n		Общее количество, n
		да	нет	
Установлен аномальный морфотип, n	Да – подгруппа а	26* (78,8%)	7	33
	Нет – подгруппа b	10* (32,2%)	21	31
Общее количество, n		36	28	64

Примечание: * – статистически значимая разница показателей в подгруппах а и b, p<0,05.

Таблица 2 Параметры и статистика переменных в модели

Переменные	Оценка параметров биномиальной регрессии. Оценивается вероятность события, что есть НГЭ				
	Оценка коэффициента	Среднеквадратичная ошибка	Статистика Уальда	95% доверительный интервал	p
Своб. член	$B_0 = -8,856$	2,734	10,494	[-14,213; -3,498]	0,001
ММП-9	$B_1 = 2,208$	0,596	13,739	[1,040; 3,375]	0,0002
ER	$B_2 = 1,189$	0,601	3,915	[0,011; 2,366]	0,048

с бесплодием, а также построить прогностическую модель прогноза эндометриоза.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 64 женщины репродуктивного возраста с бесплодием. Всем пациенткам в средней пролиферативной фазе менструального цикла выполнена Pipell-биопсия эндометрия, в которой изучалась экспрессия рецепторов эстрогена, прогестерона, ММП-9, bcl-2 и Ki-67. Pipell-биопсия эндометрия выполнялась после получения информированного согласия пациентки с помощью аспирационного зонда «Юнона» (Беларусь). При наличии 3 критериев и более, характерных для морфотипа эндометрия при эндометриозе, диагностировали аномальный морфотип. В дальнейшем по согласованию всем пациенткам была выполнена лапароскопия в пролиферативной фазе по стандартной методике с использованием комплекта эндоскопического оборудования фирмы Karl Storz (Германия) с видеосистемой и электрокоагулятором.

Для иммуногистохимического исследования использовали косвенный иммунопероксидазный метод с применением 5 первичных моноклональных антител (TermoScientific, USA) к рецепторам эстрадиола (ER) и прогестерона (PGR), ингибитора апоптоза (bcl-2), фактору клеточной инвазии (ММП-9) и пролифе-

рации (Ki-67). Для визуализации результата реакции связывания антигена с антителом использовали систему детекции Ultra Vision Quanto (TermoScientific, USA). Исследование проводилось на базе кафедры патологической анатомии и судебной медицины ДМА.

Результаты иммуногистохимического исследования оценивали полуквантитативным методом, вычисляя коэффициенты экспрессии антигенов, изучаемых по общепринятой схеме. Так, оценка экспрессии ER и PGR проводилась в 10 полях зрения при увеличении микроскопа x400, учитывался процент окрашенных клеток эпителия и интенсивность экспрессии в них. Последний показатель оценивался в баллах от 0 до 3 (отрицательная, слабая, умеренная и выраженная степень окраски). Коэффициент экспрессии (H-score) рассчитывали для каждого наблюдения по формуле: $H = B_1 \cdot \Pi + B_2 \cdot \Pi + B_3 \cdot \Pi$, где B – интенсивность окраски в баллах, П – процент окрашенных клеток при каждом значении B. Уровень экспрессии bcl-2 и

ММП-9 оценивали визуально по интенсивности окраски клеток в баллах от 0 до 3 (отрицательное, слабое, умеренное и выраженное значение окраски). Результат экспрессии Ki-67 выражается в процентах, отражает количество клеток с ядерной окраской на 100 клеток железистого эпителия или стромы.

Для построения математической модели прогноза наружного генитального эндометриоза (НГЭ) с использованием комплекса иммуногистохимических маркеров был использован пакет статистических программ STATISTICA v.12 (StatSoft Inc., USA).

Результаты и обсуждение

В процессе клинического исследования пациентки были распределены на две подгруппы: а – с аномальным и b – с нормальным морфотипом.

При проведении лапароскопии наружный генитальный эндометриоз был верифицирован у 26 (78,8%) пациенток с аномальным морфотипом эндометрия и у 10 (32,2%) пациенток с нормальным морфотипом эндометрия (табл. 1).

С целью решения задачи прогнозирования наружного генитального эндометриоза с использованием комплекса иммуногистохимических маркеров была построена компьютерная математическая модель. Исходные данные для построения модели включали возраст, значения ER, PRG, ММП-9, Ki-67, bcl-2. Возраст и Ki-67 – количественные переменные, остальные переменные – порядковые (с 4 уровнями фиксации измерений). Всего в базе данных было 64 пациентки, у 36 из которых был подтвержден диагноз НГЭ, а у 28 – не подтвержден.

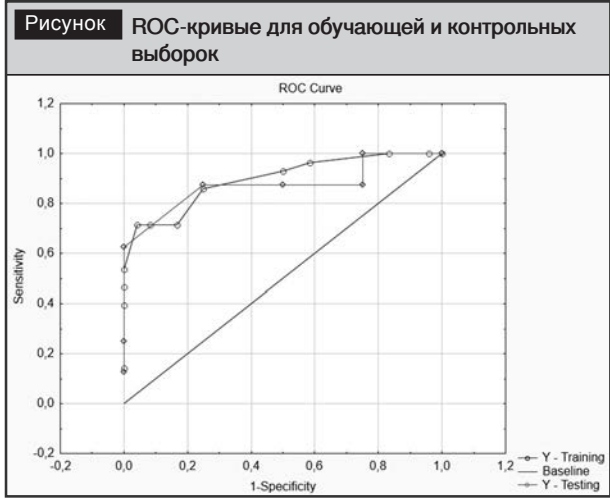


Таблица 3 Таблица классификации для порога $P_0=0,5$

Показатель	Классификация пациентов.					
	Отношение шансов: 18,00 Log. Отношения шансов: 2,89					
	Обучающая выборка			Контрольная выборка		
	Прогноз 1	Прогноз 0	Процент правильных прогнозов	Прогноз 1	Прогноз 0	Процент правильных прогнозов
Наблюдаемые 1	24	4	85,7	5	3	62,5
Наблюдаемые 0	6	18	75,0	0	4	100
Общая доля	–	–	80,7	–	–	75,0

Модель построена с помощью биномиальной логистической регрессии, дихотомическая переменная исходов принимала значение 1 при постановке у пациента диагноза НГЭ, 0 – при отсутствии НГЭ. Использовался метод максимального правдоподобия с включением. В качестве потенциальных ковариат использовались все переменные, из которых две переменные (ММП-9 и ER) были отобраны как значимые. Отбор проводился на основе вычисленной статистической значимости переменных в модели (у отобранных ковариат $p < 0,05$) с учетом клинической важности ковариат.

Для построения модели использовалась обучающая выборка из 52 пациентов, случайным образом отобранная из исходной. Неотобранные 12 пациентов составили контрольную выборку (для оценки качества модели). Данные для части пациентов были добавлены в базу данных в ходе исследования. При выборке ковариат были получены статистические значения, представленные в таблице 2.

Таким образом, модель имеет вид:

$$P = \frac{\text{EXP}(B_0 + B_1 \cdot \text{ММП-9} + B_2 \cdot \text{ER})}{1 + \text{EXP}(B_0 + B_1 \cdot \text{ММП-9} + B_2 \cdot \text{ER})}$$

где $B_0 = -8,856$, $B_1 = 2,208$, $B_2 = 1,189$.

Для каждого пациента мы сравнивали значение P (интерпретировали как

оценку вероятности наличия НГЭ) с некоторым пороговым значением P_0 , которое по умолчанию принимается равным 0,5 и потом уточняется в ROC-анализе. Если значение P ниже порога, то мы прогнозируем отсутствие НГЭ. Если равно или выше, то предполагаем наличие НГЭ.

Для поиска наилучшего порога отсека в модели был проведен ROC-анализ (рисунок).

Оценка площади под кривой обучающей выборки $AUC=0,895$ и контрольной выборки $AUC=0,875$.

В качестве значения порога отсека пациентов P_0 выбрали значение, которому соответствует максимальное значение суммы специфичности Sp и чувствительности Se. Это значение равно $P_0=0,5$, ему соответствуют значения $Se=0,86$ и $Sp=0,75$, рассчитанные для обучающей выборки. Далее представлена таблица классификации для порога $P_0=0,5$ (табл. 3).

Суммарная доля правильных прогнозов для обеих выборок равна примерно 80% для порога отсека в модели $P_0=0,5$, что является достаточно хорошим показателем точности модели. Однако мы допускаем, что можно было бы получить более высокую точность прогноза, если использовали бы непрерывные переменные для измерения экспрессии маркеров.

Заключение

Таким образом, женщинам с бесплодием целесообразно брать образцы эндометрия с последующим иммуногистохимическим исследованием экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона, ММП-9, bcl-2 и Ki-67. Наличие морфотипа, характерного для эндометриоза, позволяет с высокой вероятностью предположить наличие последнего.

Построенная математическая модель позволила с вероятностью 51/64 прогнозировать наличие наружного генитального эндометриоза у женщин с бесплодием. При этом точность прогноза в контрольной выборке всего на 5% ниже, чем в обучающей выборке, что подтверждает качество модели. Применение математического моделирования дает возможность повысить точность доклинической диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамьян Л.В., Фархат К.Н., Макиян З.Н. и др. // Проблемы репродукции. – 2015. – №5. – С.8–16.
2. Алтанец Е.Н., Медведев М.В. // Одесский медицинский журнал. – 2018. – №2. – С.22–26.
3. Алтанец Е.Н., Медведев М.В. // Сборник научных трудов ассоциации акушеров-гинекологов Украины. – 2018. – Вып.1 (41). – С.15–19.
4. Богуславская Д.В., Lebovic D.I. // Проблемы репродукции. – 2011. – №2. – С.69–74.
5. Бурлев В.А., Ильясова Н.А. // Проблемы репродукции. – 2014. – №6. – С.61–69.
6. Бурлев В.А., Ильясова Н.А. // Проблемы репродукции. – 2016. – №6. – С.66–75.
7. Новикова Е.И. и др. // Омский научный вестник. – 2012. – №1–108. – С.44–48.
8. Korkmaz D., Bastu E., Dural O., Yasa C., Yavuz E., Buyru F // Journal of Obstetrics and Gynaecology. – 2013. – Vol.33, N7. – P.725–728. doi.org/10.3109/01443615.2013.824416
9. Szymanowski K., Mikołajczyk M., Wirstlein P., Dera-Szymanowska A. // Annals of Agricultural and Environmental Medicine. – 2016. – Vol.23, N4. – P.649–653. doi:10.5604/12321966.1226861
10. Yalcin S.E., Ocal I., Yalcin Y., Selim H.S., Caltekin M.D., Aydogmus H., Kelekci S. // The Eurasian journal of medicine. – 2017. – Vol49, N2. – P.107–112. doi:10.5152/eurasianjmed.2017.17070

Поступила 17.07.2018 г.

Статья размещена на сайте www.mednovosti.by (Архив МН) и может быть скопирована в формате Word.



Международные Обзоры:

клиническая практика и здоровье

МЕЖДУНАРОДНЫЙ МУЛЬТИМЕДИЙНЫЙ ЭЛЕКТРОННЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Ресурсы сайта www.mednovosti.by

www.obzory.mednovosti.by

Электронный журнал предназначен для врачей и руководителей здравоохранения; просматривается в режиме листания страниц; позволяет публиковать полноцветные статьи со звуковым сопровождением (музыка, вступительное слово автора, руководителя центра), с иллюстрациями, с эффектом слайд-шоу, видеороликами, анимацией. Подписка бесплатная на сайте www.mednovosti.by

г. Минск, ул.Короля, д. 51, офис 22 (7 этаж). Тел./факс: (017) 200-07-02