

На правах рукописи

ТОМАЙ ЛЮДМИЛА РУСЛАНОВНА

**ЗНАЧЕНИЕ МОДИФИКАЦИИ ПРОТЕИНОВОГО ПРОФИЛЯ СЫВОРОТКИ
КРОВИ И ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В ПАТОГЕНЕЗЕ НАРУЖНОГО
ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА И ДИАГНОСТИКЕ ЕГО СТАДИЙ**

14.01.01 – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Иваново

2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Линде Виктор Анатольевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
академик РАЕН, заведующий кафедрой
женских болезней и репродуктивного здоровья
ФГБУ «Национальный медико-хирургический
центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Кира Евгений Федорович

доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой акушерства,
гинекологии и перинатологии ГБОУ ВПО
«Санкт-Петербургская государственная
медицинская академия имени И. И. Мечникова»
Минздрава России

Татарова Нина Александровна

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар.

Защита диссертации состоится «__» ____ 2016 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д208.028.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 153045, Россия, г. Иваново, ул. Победы, 20.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Ив НИИ М и Д имени В.Н. Городкова» Минздрава России, сайт: <http://www.niimid.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Панова Ирина Александровна

Актуальность проблемы

Проблема эндометриоза является одной из центральных в гинекологии наряду с воспалительными заболеваниями органов малого таза и миомой матки (Баскаков В.П. и соавт., 2002; Адамян Л.В. и соавт., 2011). Частота эндометриоза не имеет тенденции к снижению и в настоящее время достигает 10% в популяции (Guidice L.N., 2010). Прогрессирующее течение заболевания приводит к возникновению болевого синдрома, бесплодия, нарушениям менструального цикла, психоэмоциональным сдвигам, снижению качества жизни пациенток (Кира Е. Ф., Рябцева М. В, 2008).

На сегодняшний день «золотым стандартом» для диагностики эндометриоза является визуальный осмотр малого таза при лапароскопии, дополненный гистологическим исследованием (Kennedy S. et al., 2005). Однако лапароскопия – хирургическая процедура с возможным риском редких, но серьезных осложнений для пациенток (Slack A. et al., 2007). Из-за отсутствия неинвазивных и полуинвазивных методов диагностики задержка хирургического подтверждения эндометриоза от начала болевого синдрома может составлять в Британии и США до 8 лет (Sinaii N. et al., 2008). В связи с этим необходимость поиска новых высокоинформативных биомаркеров для неинвазивной диагностики эндометриоза стала приоритетным направлением исследований в этой области.

Существенный прогресс в поиске специфических маркеров патологических процессов стал возможен благодаря разработке и внедрению в биомедицинские исследования протеомных технологий (Говорун В.М., Арчаков А.И., 2002; Арчаков А.И., 2004). Протеомика позволяет оценить совокупность белков исследуемого объекта (протеом) и своевременно выявить изменения в их экспрессии. Изучение протеомной динамики, очевидно, является необходимым условием для понимания молекулярных механизмов, приводящих к формированию и развитию эндометриоза (Barbosa E.V. et al., 2012; Upadhyay R.D. et al., 2013).

Протеомный анализ представляет собой системный подход, ориентированный на одномоментное параллельное изучение многих индивидуальных белков, что позволяет получать интегральное представление о состоянии метаболических процессов в организме. Основной задачей протеомного анализа является идентификация определенных белков или их комбинаций, которые присутствуют или отсутствуют в протеоме изучаемого объекта (Сарвилина И.В. и др., 2007; Сучков С.В. и др., 2013).

Состояние генеративного аппарата женщины находит отражение в составе перитонеальной жидкости, реагирующей на все происходящие нарушения в его структурах (Koninckx P.R. et al., 1999; Bedaiwy M.A., Falcone T., 2003). Клеточно-молекулярные изменения в перитонеальной жидкости являются не только

диагностическими критериями этого заболевания, но и одновременно показателями состояния эффекторного звена регуляции функций половой системы, наиболее информативными из которых являются отклонения в белковом спектре перитонеальной жидкости. Однако в настоящее время сведения о качественном и количественном составе белков перитонеальной жидкости весьма ограничены, а используемые в клинической практике методы их определения недостаточно специфичны. В связи с этим протеомный анализ перитонеальной жидкости будет способствовать совершенствованию методов прогнозирования и ранней диагностики развития эндометриоза.

Цель исследования – выявить новые молекулярные аспекты патогенеза наружного генитального эндометриоза (НГЭ) у женщин репродуктивного возраста, на основании чего оптимизировать диагностику эндометриоза и его стадий.

Задачи исследования:

1. Выявить клинические и анамнестические особенности НГЭ у пациенток репродуктивного возраста.
2. На основании качественного протеомного анализа охарактеризовать протеом перитонеальной жидкости пациенток с НГЭ, выявить белки отличия и установить особенности их содержания в сыворотке крови и перитонеальной жидкости в зависимости от стадии заболевания.
3. Выявить особенности содержания в сыворотке крови и перитонеальной жидкости sFASL, СЭФР, СЭФР-R1 в зависимости от стадии эндометриоза.
4. Установить корреляционные взаимосвязи между изучаемыми показателями протеома и регуляторами ангиогенеза и апоптоза у пациенток репродуктивного возраста с НГЭ.
5. Разработать критерии диагностики НГЭ и его стадий у пациенток репродуктивного возраста с использованием математического анализа по методу оценки 3D-графической прогностической поверхности, «деревьев решений», логистической регрессии и ROC-анализа.

Научная новизна работы

- На основании протеомного анализа перитонеальной жидкости получены новые данные об особенностях ее белкового спектра у пациенток с НГЭ, заключающиеся в отсутствии фактора дифференцировки пигментного эпителия, ингибитора апоптоза б, гаптоглобина, транстиретина, α -1-антитрипсина и появлении новых белков – Апо-AIV, ГСПГ, С3 и С4b.

- Выявлены нарушения в регуляции апоптоза при эндометриозе, проявляющиеся в снижении уровня sFASL в сыворотке крови при эндометриозе I-II стадии и в перитонеальной жидкости – при III-IV стадии заболевания.

- Установлены корреляционные взаимосвязи между содержанием в сыворотке крови и перитонеальной жидкости выявленных белков отличия и уровнем факторов, которые регулируют ангиогенез и апоптоз, проявляющиеся наличием отрицательных связей между уровнем sFASL и C4-b и положительных связей между Апо-AIV и СЭФР-R1, sFASL и СЭФР, С3 и C4-b.

- Впервые выявлены изменения содержания идентифицированных белков отличия в сыворотке крови и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом, заключающиеся в повышении уровня ГСПГ и Апо-AIV.

- Впервые выявлена взаимосвязь между содержанием белков отличия в сыворотке крови и стадиями эндометриоза: ранние стадии эндометриоза ассоциируются с повышенным содержанием Апо-AIV, ГСПГ, С3 и сниженным – sFASL, распространенные стадии эндометриоза – с увеличением уровня Апо-AIV, ГСПГ и С3.

Теоретическое и практическое значение работы

– проведенное исследование имеет большое значение для понимания молекулярных механизмов развития эндометриоза и углубляет представления об особенностях изменения протеома у пациенток с различными стадиями НГЭ;

– результаты работы свидетельствуют о том, что выявленная модификация продукции белков может быть иницирующим фактором в сложной цепи метаболических нарушений, приводящих к формированию и прогрессированию НГЭ;

– полученные данные позволили предложить один из механизмов бесплодия при эндометриозе;

– установлены определенные закономерности, лежащие в основе нарушений клеточной регуляции, которые реализуются в процессе апоптоза при НГЭ;

– выявленные особенности протеомных и метаболомных изменений на системном и местном уровнях позволили статистически обосновать и предложить для использования в практическом здравоохранении новые способы неинвазивной диагностики НГЭ и его стадий;

– по результатам исследования разработаны информативные способы диагностики НГЭ и его ранних стадий (патент № 2526823 от 05.08.13 и патент № 2571291 от 15.08.2014).

Методология и методы диссертационного исследования

Методология диссертационной работы основана на изучении литературных данных по клиническому значению протеомных изменений на местном и системном уровнях у пациенток репродуктивного возраста с НГЭ, оценке степени разработанности и актуальности темы. Учитывая поставленную цель, разработан

план выполнения этапов диссертационной работы, выбраны объекты исследования и подобран комплекс методов исследования. Объектами исследования стали пациентки репродуктивного возраста, предъявляющие жалобы на боль и/или бесплодие с верифицированным НГЭ различных стадий (по итогам лапароскопии и гистологического исследования), а также женщины без эндометриоза. При обследовании пациенток использовался комплекс клинических, иммунохимических и молекулярных методов исследования. Математическая обработка результатов исследования проводилась с использованием современных компьютерных программ прикладного статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. Для формирования и прогрессирования НГЭ характерно изменение спектра протеома перитонеальной жидкости, заключающееся в отсутствии 5 и появлении 4 дополнительных белков, не обнаруженных у пациенток без эндометриоза. Идентифицированные белки отличия выполняют важные функции в регуляции действия гормонов, редокс-процессов, апоптоза, ангиогенеза, воспаления и иммунного ответа.

2. Формирование и течение НГЭ сопровождается изменениями в белковом профиле и содержании клеточных регуляторов апоптоза и ангиогенеза СЭФР и sFASL как в перитонеальной жидкости, так и в сыворотке крови.

3. Модификация протеомного спектра и содержания клеточных регуляторов при изученной патологии, наряду с негативными последствиями, лежит в основе компенсаторных реакций, препятствующих росту гетеротопий и формированию спаечного процесса.

4. Применение современных высокоинформативных технологий протеомного анализа с целью выявления изменений в белковых профилях, связанных с эндометриозом, дает возможность определить наиболее специфические маркеры заболевания и использовать их для оптимизации диагностики заболевания.

Апробация работы

Материалы диссертации были представлены на: ученом совете и проблемной комиссии ФГБУ «Ростовский НИИ акушерства и педиатрии» Минздрава России, VII, VIII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2013, 2014), XIV, XV, XVI Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2013, 2014, 2015), VII Региональном научном форуме «Мать и дитя» (Геленджик, 2014), 6-м, 7-м Международном научном конгрессе «Оперативная гинекология – новые технологии» (Санкт-Петербург, 2012, 2014), 4th Nordic Congress on Endometriosis (Turku, Finland, 2013), VI Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2013), Международном медицинском форуме «Репродуктивное здоровье: проблемы, пути, решения и

достижения» (Судак, 2014), Региональной научно-практической конференции «Приоритетные задачи охраны репродуктивного здоровья и пути их решения» (Ростов-на-Дону, 2013, 2014), American Society for Reproductive Medicine Annual Meeting (Honolulu, Hawaii, 2014), Royal College of (RCOG) Obstetricians and Gynaecologists World Congress in Obstetrics and Gynaecology (Hyderabad, India, 2014; Australia, 2015), The 1st Congress of the Society of Endometriosis and Uterine Disorders «Endometriosis and women`s reproductive life» (Paris, France, 2015), II Региональной научно-практической конференции «Нейроэндокринная патология. Вопросы репродукции человека» (Ростов-на-Дону, 2016), X Юбилейный Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 2016).

Внедрение результатов работы в практику

Полученные результаты внедрены в практику работы гинекологического отделения ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России, гинекологического отделения НУЗ "Дорожная клиническая больница на ст. Ростов-Главный ОАО "РЖД" г. Ростова-на-Дону. Материалы диссертации используются в лекциях и семинарах по повышению квалификации врачей ЮФО и СКФО, а также при проведении занятий с клиническими ординаторами и аспирантами ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 30 научных работ, из них 9 в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК.

Личный вклад автора

Автором проведен анализ современной литературы, осуществлен отбор пациенток в группы, их клиническое обследование, ведение пациенток с НГЭ, а также их оперативное лечение. Выполнена статистическая обработка, анализ полученных данных и обобщение результатов клинико-лабораторных исследований.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 166 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 73 отечественных и 187 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 43 таблицами и 38 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на базе клинических и научных подразделений Ростовского НИИ акушерства и педиатрии, а также на базе отдела молекулярной биологии ЮНЦ РАН.

Проспективный анализ клинических проявлений заболевания и лабораторных исследований проведен у 88 пациенток репродуктивного возраста (средний возраст

29,3±0,3 года), из них 58 пациенток с НГЭ (основная группа) и 30 женщин без эндометриоза (контрольная группа), проходивших обследование и лечение в отделении гинекологии ФГБУ "РНИИАП" Минздрава России с 2012 по 2014 гг.

Критерии включения пациенток в исследование: репродуктивный возраст пациенток, наличие жалоб на бесплодие и/или болевой синдром, проведение у больной эндоскопической операции (лапаро- и гистероскопия), подтверждающей НГЭ с последующей морфологической верификацией диагноза.

Критериями исключения из исследования являлись: возраст пациенток старше 45 лет, злокачественные новообразования.

Все клинические исследования проводились с информированного согласия больных и протоколировались по стандартам Этического комитета РФ.

Материалом исследования служила перитонеальная жидкость, забор которой осуществляли в процессе проведения лапароскопических операций, и сыворотка крови, полученная во время дооперационного обследования.

Все пациентки в ходе проводимого исследования были разделены на 3 клинические группы: 1-ю группу составили 28 больных с I-II стадиями НГЭ по классификации r-AFS (1996), 2-ю группу – 30 пациенток с III-IV стадиями заболевания. 3-ю контрольную группу составили 30 пациенток без эндометриоза, которым проводили обследование по поводу бесплодия или стерилизацию. По возрасту, особенностям репродуктивной системы, соматическому и гинекологическому анамнезу женщины основной и контрольной группах были сопоставимы.

Методы исследования. Всем пациенткам проведено рутинное обследование: RW, ВИЧ, гепатит В, гепатит С, флюорограмма, ЭКГ.

Ультразвуковое исследование органов малого таза женщинам осуществляли ультразвуковым диагностическим прибором, сканирующим в реальном масштабе времени «Aloka SSP-1400» (Япония). Эндоскопические методы: лапароскопия и гистероскопия проводились по общепринятым методикам с использованием оборудования фирмы Karl Storz (Германия). Оценка степени распространения НГЭ осуществлялась согласно классификации r-AFS. Кольпоскопия выполнялась с использованием оборудования LEISEGANG Mod 3DLF Nr 53000 (Германия). Гистологическое исследование: гистологические срезы делались серийно, окрашивались гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван Гизону.

Протеомный анализ. Протеомные карты перитонеальной жидкости получали с помощью двумерного электрофореза в полиакриламидном геле, который включал в первом направлении – изоэлектрическое фокусирование (IPG-стрипы pH 3-10, прибор Protean IEF Cell, Bio-Rad, США), во втором – вертикальный электрофорез (8-16,5% гель, прибор Protean II xi Multi-Cell, Bio-Rad, США). Для

получения аналитических гелей использовали загрузку белка – 180 мкг/гель. Окрашивание белковых пятен осуществляли азотнокислым серебром, затем фореграммы сканировали и анализировали с использованием пакета программ PDQuest (Bio-Rad, США). После вырезания белкового пятна из геля и процедуры трипсинолиза идентификацию белков проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bernard K.R., et al. 2004). Масс-спектры триптических пептидов получали на времяпролетном масс-спектрометре Autoflex II (Bruker, Германия) и анализировали с использованием опции Peptide Fingerprint программы Mascot MS Search (Matrix Science, США) и баз данных NCBI и Swiss-Prot. Результаты идентификации белков принимались как достоверные при уровне значимости не менее 95% и показателе сиквенс-покрытия не менее 60%.

Иммуноферментный анализ. Содержание ГСПГ, Апо-AIV, компонентов системы комплемента C3 и C4-b в перитонеальной жидкости и сыворотке крови определяли методом ИФА с помощью наборов фирм «Алкор-Био» (Россия), «Cloud-Clone Corp.» (США) и «AssayPro» (США) соответственно. Все анализы проведены на многофункциональном счетчике для иммуноферментных исследований с программным обеспечением Victor (Finland).

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 10.0, фирмы StatSoft. Inc.). Проверка рядов данных на нормальность распределения осуществлялась с помощью критерию согласия Пирсона. Применялись процедуры описательной статистики, с помощью которых находили значения медианы и интерквартильного размаха (25%, 75%). Для исследования переменных, имеющих неоднородную дисперсию или распределение, отличное от нормального, использовались непараметрические критерии: U Манна-Уитни и Краскела-Уоллеса. Оценка качественных показателей проводилась путем анализа таблиц сопряженности с использованием χ^2 -критерия (для таблиц 2x2 – в точном решении Фишера). Для исследования корреляционных взаимодействий выполнялся корреляционный анализ Спирмена. При оценке диагностической значимости анализируемых показателей применялся метод логистической регрессии, «Деревья решений» и ROC-анализ, а также определялись уровни чувствительности и специфичности. Результаты оценивали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинический анализ показал, что время наступления менархе и продолжительность менструального цикла у пациентов с НГЭ не отличались от таковых у пациенток контрольной группы. Различие заключается в продолжительности менструации более 5 дней, которое имеет место у 41,3% больных с НГЭ.

Более чем у половины пациенток с НГЭ (63,7%) была обнаружена дисменорея, причем при I-II стадиях – у 50%, а при III-IV стадиях – у 76,7% больных. Синдром тазовых болей в исследовании имел место у 32,7% пациенток, дисменорея – у 63,7%, диспареуния – 13,8%, меноррагии – у 19% и кровянистые выделения – у 17,2% женщин.

Важно подчеркнуть, что в группах с НГЭ имеет место не только первичное бесплодие (51,7%), но и вторичное бесплодие (18,9%), хотя преобладает первичное. Обращает на себя внимание больший (64,3%) процент первичного бесплодия у пациенток с минимальными проявлениями НГЭ, тогда как при более тяжелом поражении оно обнаружено только у 40% женщин. Приблизительно в 3 раза реже имело место вторичное бесплодие у пациенток с НГЭ, которое по клиническим группам составило 21,4% и 16,6% соответственно.

При I-II стадиях НГЭ первичное бесплодие менее 5 лет наблюдалось у 60,7% больных, тогда как у пациенток с III-IV стадиями заболевания только – у 33,3%. Бесплодие более 5 лет как при первичном, так и при вторичном бесплодии имело место от 3,6 до 6,7% случаев.

У пациенток с I-II стадиями заболевания ИППП и хронические воспалительные процессы имели место у 50% больных, тогда как у женщин с III-IV стадиями ИППП были обнаружены в 20% случаев, а ВЗОМТ – в 40% случаев. Фоновые заболевания шейки матки были выявлены у 14,3% больных с I-II стадиями НГЭ и у 33,3% пациенток с III-IV стадиями. Таким образом, у больных с I-II стадиями НГЭ преобладает неблагоприятный фон в виде наличия в анамнезе заболеваний, вызываемых ИППП, ВЗОМТ и патологии шейки матки.

Обращает на себя внимание тот факт, что 14,3% женщин с минимальными проявлениями эндометриоза и 43,3% с более тяжелыми поражениями использовали методы оральной гормональной контрацепции.

У всех больных 1 и 2 клинических групп имелось гистологическое подтверждение диагноза НГЭ. Анализ проведенных лапароскопических операций показал, что наиболее высокой (50%) в нашем исследовании оказалась частота эндометриoidных кист, что свидетельствует о несвоевременной диагностике эндометриоза яичников. Поверхностные очаги эндометриоза на яичниках были обнаружены в 32,7% случаев. По нашим данным при лапароскопии подкапсулярные желтые тела обнаружены у 40% пациенток с эндометриoidными кистами яичников, что подтверждает также вышеуказанный факт. На брюшине малого таза эндометриоз был обнаружен в 69% случаев на крестцово-маточных связках, в 74,1% случаев в прямокишечно-маточном углублении, тогда как пузырно-маточное пространство имело очаги в 22,4% случаев.

Выявление дифференциально-экспрессирующихся белков в перитонеальной жидкости при НГЭ методом протеомного анализа.

Учитывая особую роль в формировании и развитии эндометриоза процессов, происходящих на локальном уровне, на первом этапе проводили протеомный анализ перитонеальной жидкости женщин с НГЭ III-IV стадий и пациенток контрольной группы.

Протеомный профиль перитонеальной жидкости характеризуется значительной гетерогенностью (до 260 электрофоретических фракций с диапазонами молекулярных масс от 10 до 130 кДа и границами изоэлектрических точек от 5.0 до 8.5). Большинство белков обнаруживается как у пациенток контрольной группы, так и у пациенток с НГЭ. В то же время выявлен ряд белков отличия, присутствие или отсутствие которых имеет место только при НГЭ (Таблица 1; Рисунок 1).

В протеомном спектре перитонеальной жидкости при эндометриозе отсутствуют 11 белков, из которых идентифицировано 5: фактор дифференцировки пигментного эпителия, транстиретин, гаптоглобин, α -1-антитрипсин и ингибитор апоптоза б.

Таблица – 1 Идентифицированные белки перитонеальной жидкости при НГЭ

№	Название белка	№ в базе Swiss-Prot	Мм, кДа	pI	Конт. группа	НГЭ	p
1	α -1-антитрипсин	P01009	58.6	5.4	+	–	0,011
2	Фактор дифференцировки пигментного эпителия	P36955	48.8	5.7	+	–	0,021
3	Компонент комплимента С3	P01024	48.8	8.4	–	+	0,031
4	Аполипопротеин А-IV	P06727	45.1	5.5	–	+	0,003
5	Гаптоглобин	P00738	44.4	5.5	+	–	0,003
6	ГСНГ	P04278	44.3	5.6	–	+	0,011
7	Ингибитор апоптоза б	O43866	21.3	5.9	+	–	0,001
8	Компонент комплимента С4-b	P0C0L5	21.3	6.6	–	+	0,026
9	Гаптоглобин	P00738	18.9	6.0	+	–	0,033
10	Транстиретин	P02766	12.6	5.5	+	–	0,000

Примечание: pI - изоэлектрическая точка, Мм-молекулярная масса, «+» – присутствие белка, «–» – отсутствие белка, p – достоверность отличий между группами.

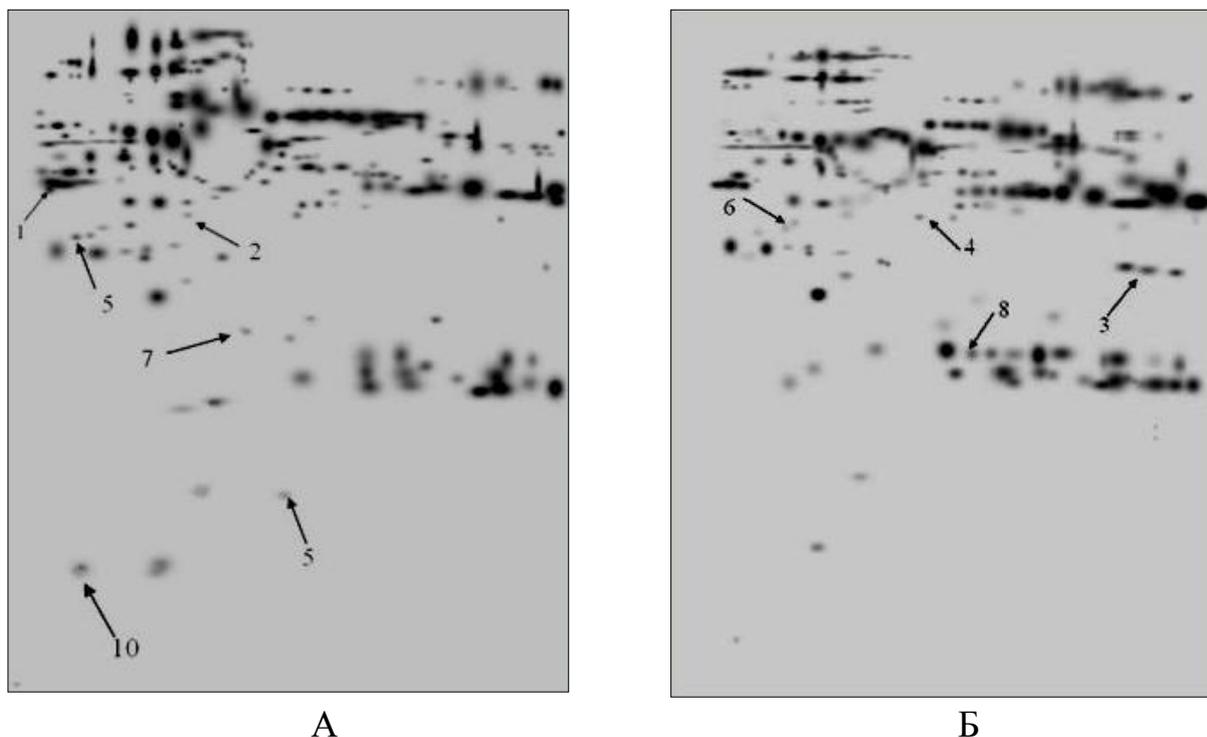


Рисунок 1 – Протеомные карты перитонеальной жидкости женщин контрольной группы (А) и женщин с НГЭ (Б).

Примечание. Нумерация белков соответствует таковой в Таблице 1.

Фактор дифференцировки пигментного эпителия является одним из наиболее мощных антиангиогенных и антипролиферативных факторов (Минкевич Н.И. и др., 2010), поэтому угнетение его экспрессии может быть одной из причин, приводящих к снижению эндометриального апоптоза и усилению ангиогенеза, способствуя имплантации и росту гетеротопий.

Отсутствие в перитонеальной жидкости при изучаемой патологии транстиретина, осуществляющего транспорт T_3 и T_4 , по-видимому, создает локальный избыток гормонов щитовидной железы, токсическое действие которых приводит к поражению репродуктивных органов (Richardson S.J., 2007). Тиреоидные гормоны, модулируя эффекты эстрогенов на клеточном уровне, могут способствовать развитию нарушений гисто- и органогенеза гормоночувствительных структур и ухудшению течения эндометриоза (Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2002).

Среди белков, не выявленных при НГЭ, важную роль в регуляции иммунного ответа выполняет секретируемый макрофагами ингибитор апоптоза 6 (Sarrias M.R. et al., 2005). Возможно, именно нарушение экспрессии этого белка приводит к формированию дисбаланса иммунокомпетентных клеток в перитонеальной жидкости за счет подавления апоптоза Т-лимфоцитов и НК-клеток.

Отсутствие в перитонеальной жидкости неферментативного антиоксиданта гаптоглобина (Wassell J., 2000), можно полагать, вносит вклад в усиление окислительного стресса, развивающегося при эндометриозе.

При указанной патологии в перитонеальной жидкости также не обнаружен α -1-антитрипсин, являющийся ингибитором сериновых протеаз, которые непосредственно вовлечены в процессы инвазии эндометриальных клеток (Дедуль М.И. и др., 2006.). Это, по-видимому, обуславливает дисбаланс в системе протеаза-ингибитор, способствуя имплантации эндометриальных клеток.

Наряду с отсутствием вышеуказанных белков в перитонеальной жидкости пациенток с НГЭ установлено появление следующих белков: Апо-АIV, ГСПГ, компонентов системы комплемента C3 и C4b, не обнаруженных у женщин контрольной группы.

Увеличение продукции Апо-АIV, обладающего антиоксидантными и антиинфламаторными свойствами (Spaulding H.L. et al., 2003), очевидно, имеет компенсаторное значение в условиях окислительного стресса и воспаления, сопровождающих развитие данной патологии.

Повышенное содержание при эндометриозе ГСПГ, регулирующего биодоступность стероидных гормонов для эндометриальных клеток, создает условия для локальной гиперэстрогении (Hammond G.L., 2011). В результате этого становится возможным повышение пролиферативного потенциала клеток эндометриоидных гетеротопий.

Усиление секреции перитонеальными макрофагами компонентов системы комплемента C3 и C4b, участвующими в воспалительной реакции, обезвреживании апоптотных клеток и иммунных комплексов, вносит определенный вклад в механизмы развития эндометриоза и связанного с ним бесплодия (Kabut J. et al., 2007).

Для оценки диагностической значимости выявленных с помощью протеомного анализа дифференциально-экспрессирующихся белков целесообразно последующее проведение исследования с использованием ИФА. Наибольший интерес представляют белки отличия, которые появились в протеомном профиле перитонеальной жидкости при эндометриозе, поскольку именно повышенный уровень определяемого белка наиболее часто является диагностическим/прогностическим критерием развития того или иного патологического процесса.

Количественная оценка белков-маркеров НГЭ методом ИФА.

На втором этапе исследования методом ИФА в перитонеальной жидкости и сыворотке крови пациенток всех групп были определены количественные показатели белков отличия, для которых при изучаемой патологии обнаружена повышенная экспрессия.

Таблица 2 – Содержание белков отличия и клеточных регуляторов в сыворотке крови женщин контрольной и основной групп

Показатель	Контроль	НГЭ I-II ст.	p ₁	НГЭ III-IV ст.	p ₂
Апо-АIV (мкг/мл)	34,93 [31,16-37,81]	40,06 [35,53-47,17]	0,033	38,99 [36,48-46,40]	0,014
ГСПГ (нмоль/л)	55,49 [43,17-80,79]	96,68 [65,65-121,96]	0,010	84,44 [64,90-88,04]	0,036
С3 (мкг/мл)	8,22 [5,96-8,86]	10,38 [9,29-11,16]	0,050	10,14 [9,15-11,78]	0,018
С4-в (мкг/мл)	0,07 [0,05-0,09]	0,06 [0,05-0,08]	0,600	0,06 [0,05-0,08]	0,590
sFASL (нг/мл)	0,20 [0,15-0,24]	0,11 [0,08-0,20]	0,015	0,18 [0,02-0,23]	1,836
СЭФР (пкг/мл)	330,28 [187,53-399,06]	280,99 [118,52-436,19]	0,883	340,45 [219,73-390,61]	0,883
СЭФР-R1 (пкг/мл)	27,34 [21,12-49,93]	33,78 [21,15-90,76]	0,499	27,34 [17,54-37,85]	0,756

Примечание. Здесь и в Таблице 3 результаты представлены как медиана и межквартильный интервал. Достоверные отличия между: контрольной и 1-ой группой – p₁, контрольной и 2-ой группой – p₂.

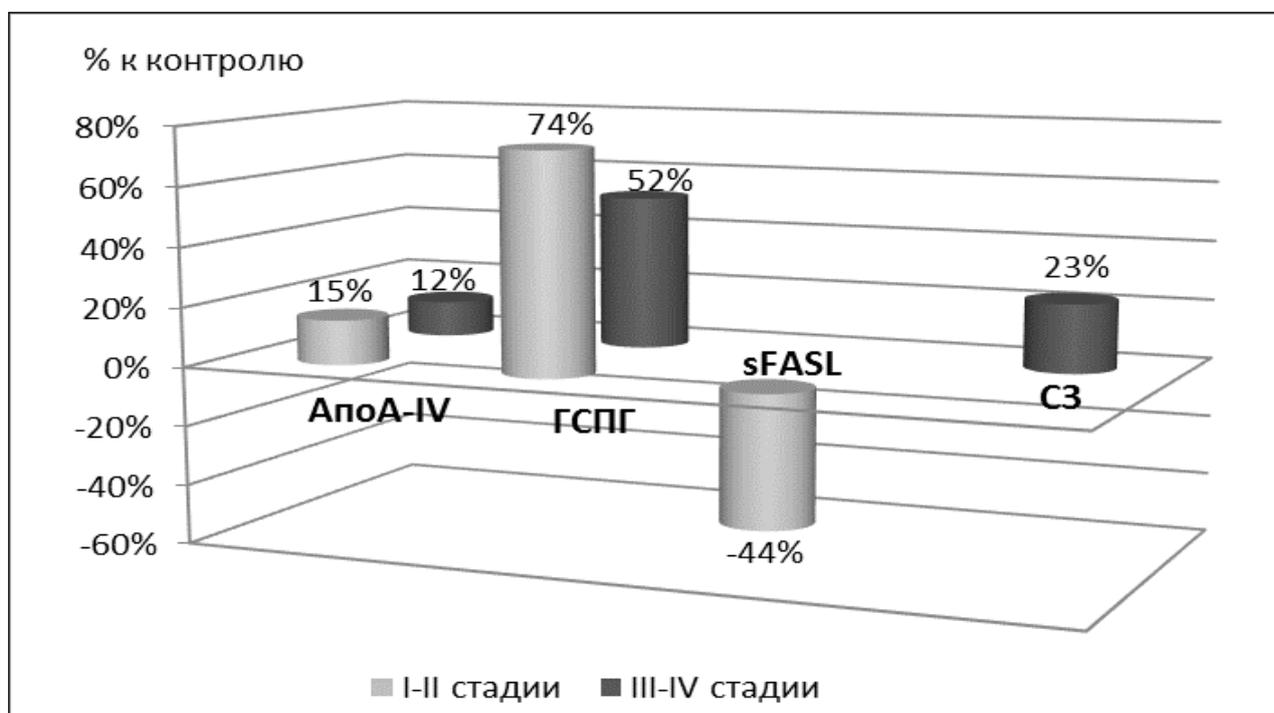


Рисунок 2 – Изменение содержания белков отличия и клеточных регуляторов в сыворотке крови при различных стадиях НГЭ.

В сыворотке крови при I-II стадиях эндометриоза содержание ГСПГ на 74% и содержание Апо-АIV на 15% превышают аналогичные величины в контрольной группе (Таблица 2, Рисунок 2). Следует отметить, что при ранних стадиях заболевания была отмечена тенденция к повышению уровня компонента С3 в сыворотке крови ($p=0,05$).

При III-IV стадиях заболевания в сыворотке крови на 52% повышен уровень ГСПГ и на 12% – уровень Апо-АIV по сравнению с величинами в контрольной группе. Для компонента системы комплемента С3 характерно увеличение содержания на 23% относительно контрольного показателя (Таблица 2, Рисунок 2).

В перитонеальной жидкости при I-II и III-IV стадиях эндометриоза имеет место повышение содержания Апо-АIV на 28% и 24% соответственно по сравнению с уровнем в контрольной группе (Таблица 3, Рисунок 3). Индукция экспрессии Апо-АIV может быть одним из компенсаторных механизмов, который лежит в основе повышения уровня липопротеинов высокой плотности, обладающих противовоспалительными свойствами, что предотвращает усиление процессов воспаления при эндометриозе.

Таблица 3 – Содержание белков отличия и клеточных регуляторов в перитонеальной жидкости женщин контрольной и основной групп

Показатель	Контроль	НГЭ I-II ст.	p_1	НГЭ III-IV ст.	p_2
Апо-АIV (мкг/мл)	16,27 [14,63-18,57]	20,78 [18,58-30,68]	0,002	20,22 [17,13-21,62]	0,026
ГСПГ (нмоль/л)	14,62 [10,95-17,00]	18,85 [16,37-24,65]	0,031	20,56 [15,8-28,17]	0,033
С3 (мкг/мл)	1,52 [1,30-2,40]	1,69 [1,48-2,11]	0,529	2,65 [2,20-3,59]	0,001
С4-в (мкг/мл)	0,04 [0,02-0,04]	0,03 [0,03-0,04]	0,727	0,03 [0,03-0,04]	0,917
sFASL (нг/мл)	0,12 [0,10-0,20]	0,11 [0,10-0,13]	0,541	0,07 [0,05-0,09]	0,002
СЭФР (пкг/мл)	227,64 [164,96-337,33]	258,64 [163,03-802,18]	0,541	361,79 [296,39-941,42]	0,005
СЭФР-R1 (пкг/мл)	22,30 [16,45-32,15]	22,31 [2,45-78,61]	0,987	27,35 [17,84-106,19]	0,384

Аналогичная направленность изменений характерно и для ГСПГ, содержание которого в перитонеальной жидкости повышено на 29% и 41%, соответственно, при I-II и III-IV стадиях эндометриоза (таблица 3, рисунок 3). Как указывалось выше,

данный белок, выполняющий роль своеобразного депо стероидных гормонов в перитонеальной жидкости, может способствовать повышению в ней уровня эстрогенов.

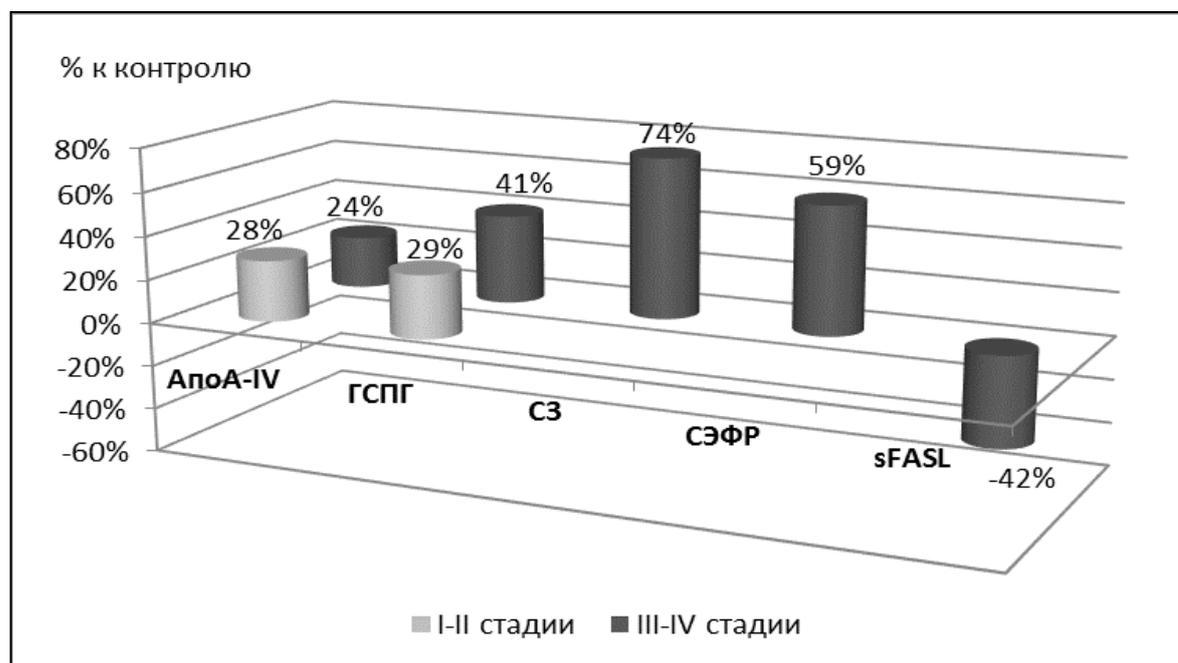


Рисунок 3 – Изменение содержания белков отличия и клеточных регуляторов в перитонеальной жидкости при различных стадиях НГЭ.

Концентрация компонента системы комплимента С3 в перитонеальной жидкости на 74% выше в группе пациенток с III-IV стадиями эндометриоза относительно данных контрольной группы (Таблица 3, Рисунок 3). Очевидно, повышение продукции перитонеальными макрофагами этого белка, выполняющего важные регуляторные функции, также влияет на процессы развития эндометриоза и связанного с ним бесплодия.

Учитывая полученные нами данные исследования динамики белков отличия при эндометриозе, а также их значение в реализации ангиогенеза и процессов апоптоза, мы сочли целесообразным усилить этот фрагмент работы изучением других маркеров данного патологического процесса.

Уровень СЭФР при III-IV стадиях эндометриоза в перитонеальной жидкости увеличен на 59% по сравнению с показателями группы контроля (Таблица 3, Рисунок 3). Высокое содержание этого регулятора поддерживает локальный ангиогенный потенциал и, как следствие, способствует дальнейшему существованию гетеротопий на брюшине.

В сыворотке крови женщин с эндометриозом I-II стадии показатель sFASL снижен на 44% по сравнению с величиной в группе контроля (Таблица 2, Рисунок 2). Содержание sFASL в перитонеальной жидкости при III-IV стадиях заболевания

уменьшается на 42% (Таблица 3, Рисунок 3). Эти результаты, очевидно, свидетельствуют о снижении апоптоза на локальном уровне, вследствие чего повышается пролиферативная активность эндометриоидных клеток и усиливается их способность к аномальной имплантации, выживанию и росту в эктопических очагах (Марченко Л.А., Ильина Л.М., 2011).

С учетом изученных нами параметров белкового спектра и клеточных регуляторов, представляется целесообразным рассмотреть механизм апоптоза с новых позиций. Как уже было описано ранее, при НГЭ нами не обнаружен в перитонеальной жидкости ингибитор апоптоза 6. Известно, что уменьшение его экспрессии приводит к усилению апоптоза цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток, а также макрофагов в перитонеальной полости, и, как следствие, снижению активности этих клеток (Arici A. et al., 1998; Bruner-Tran K.L. et al., 2006). Именно дефицит их активности может определить имплантацию и развитие заносимых в брюшную полость частиц эндометрия.

Также в проведенном исследовании при НГЭ не обнаружен фактор дифференцировки пигментного эпителия, который играет опосредованную роль в апоптозе, стимулируя выработку sFASL. Установленное нами уменьшение уровня sFASL в перитонеальной жидкости приводит к снижению апоптоза клеток эндометриоидных гетеротопий.

Уменьшение чувствительности эндометриоидных клеток к апоптозу, с одной стороны, и спонтанный апоптоз клеток иммунной системы, с другой стороны, способствуют пролиферации и росту эндометриоидных имплантов в брюшной полости (Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2002; Chung H.W. et al., 2001; Nasu K. et al., 2005). В свою очередь, развитие очагов эндометриоза повышает выработку иммуносупрессивных агентов, которые определяют дальнейшее понижение активности НК-клеток, ухудшение иммунного контроля, развитие воспалительной реакции и прогрессирование эндометриоза (Пашков В.М. и др., 2007).

Следует отметить, что в работе впервые выявлено увеличение экспрессии Апо-AIV при НГЭ в сыворотке крови и перитонеальной жидкости. Помимо выше указанных функций, данный белок снижает редокс-зависимый апоптоз иммунокомпетентных клеток (Spaulding H.L. et al., 2003). Этот механизм, вероятно, является компенсаторной реакцией, направленной на сохранение иммунологической защиты брюшины малого таза.

При проведении корреляционного анализа представленных данных обнаружены положительные связи между показателями С3 и С4-b в сыворотке крови ($r=0,9$) и в перитонеальной жидкости ($r=0,7$) при I-II стадиях НГЭ. При этом выявлена отрицательная связь между sFASL и С4-b ($r=-0,5$). При III-IV стадиях НГЭ обнаружены положительные связи между СЭФР и sFASL в сыворотке крови ($r=0,05$)

и перитонеальной жидкости ($r=0,6$), а также положительные связи между Апо-АIV и СЭФР-R1 ($r=0,6$). Результаты корреляционного анализа подтверждают взаимозависимость и взаимосвязь изученных клеточных регуляторных факторов и белков отличия при реализации их метаболических эффектов как в сыворотке крови, так и перитонеальной жидкости при эндометриозе.

С использованием метода «Дерева решений», логистической регрессии и ROC-анализа был проведен многофакторный анализ моделей (комбинации показателей) для определения их диагностической чувствительности и специфичности в качестве маркеров НГЭ. С учетом полученных данных лучшими для малоинвазивной диагностики являются:

– модель 1: ГСПГ, Апо-АIV, С3, С4-в, позволяющая отличить здоровых женщин от женщин с НГЭ (специфичность 92,86%, чувствительность 96,43%, AUC = 0,94).

– модель 2: ГСПГ, Апо-АIV, С3, С4-в, позволяющая отличить женщин контрольной группы и пациенток с I-II стадиями (специфичность 92,31%, чувствительность 100%, AUC = 0,95).

С помощью протеомного анализа, позволяющего установить корреляцию между набором белков и развитием патологии, при НГЭ обнаружены изменения белкового состава перитонеальной жидкости и сыворотки крови по сравнению с их контрольными спектрами. Модификация экспрессии регуляторных белков, по-видимому, является одним из важных патогенетических факторов, способствующих функционированию эндометриальных клеток вне зоны физиологического роста. Полученные результаты позволили предложить комбинацию нескольких информативных маркеров для диагностики НГЭ и его стадий.

ВЫВОДЫ

1. В анамнезе пациенток с НГЭ вне зависимости от стадии заболевания преобладают: длительные менструации (41,3%), дисменорея (63,7%), первичное бесплодие (51,7%). При формировании I-II стадий заболевания значение имеют ИПП (50%) и перенесенные воспалительные заболевания органов малого таза (50%).

2. Протеомный спектр перитонеальной жидкости при эндометриозе характеризуется отсутствием 5 белков: фактора дифференцировки пигментного эпителия, транстиретина, гаптоглобина, α -1-антитрипсина, ингибитора апоптоза-6 и появлением 4 белков отличия: Апо-АIV, ГСПГ, компонентов системы комплемента С3 и С4-в.

При I-II стадиях НГЭ имеет место повышение уровня Апо-АIV и ГСПГ в сыворотке крови и перитонеальной жидкости, при III-IV стадиях заболевания – увеличение содержания Апо-АIV, ГСПГ и С3.

3. I-II стадии НГЭ отличаются снижением в сыворотке крови содержания sFASL, при III-IV стадиях заболевания имеет место снижение в перитонеальной жидкости уровня sFASL и повышение – СЭФР.

4. При эндометриозе в сыворотке крови и перитонеальной жидкости обнаруживается отрицательная корреляционная связь между sFASL и С4-в и положительная – между Апо-АIV и СЭФР-R1, sFASL и СЭФР, С3 и С4-в.

5. Проведенный статистический анализ с помощью оценки 3D-графической прогностической поверхности, метода «деревьев решений», логистической регрессии и ROC-анализа, позволил предложить для диагностики НГЭ определение комбинации белков, обладающей высокой чувствительностью и специфичностью: для I-II стадий – Апо-АIV, ГСПГ и sFASL, для III-IV стадий – Апо-АIV, ГСПГ и С3.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

При подозрении на НГЭ у пациенток рекомендуется определять в сыворотке крови содержание Апо-АIV и ГСПГ. Если уровень в сыворотке крови Апо-АIV менее 44,17 мкг/мл и ГСПГ менее 70,57 нмоль/л – диагноз НГЭ не подтверждается. При значении сывороточного уровня Апо-АIV более 44,17 мкг/мл и ГСПГ более 70,57 нмоль/л – диагностируется НГЭ. Для дифференциальной диагностики стадий НГЭ рекомендовано рассчитывать коэффициент отношения ГСПГ/Апо-АIV и при его величине 2,7 и меньше диагностировать I- II стадии НГЭ, а при величине больше 2,7 – III-IV стадии заболевания.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ:

1. Колесникова, Л.В. Отсутствие негативного влияния полиморфизма гена параоксоназы в обмене липопротеинов при наружном генитальном эндометриозе [Текст] / Л.В. Колесникова, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, А.В. Ширинг, К.В. Слесарева, **Л.Р. Томай**, Н.Н. Скачков // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Том LXI. – С. 28-29.

2. Линде, В.А. Протеомные технологии в изучении наружного генитального эндометриоза [Текст] / В.А. Линде, **Л.Р. Томай**, В.О. Гунько, Т.Н. Погорелова, Н.В. Ермолова, К.В. Слесарева, Л.В. Колесникова, И.В. Маркарьян, Н.Н. Скачков // Медицинский вестник Юга России. – 2013. – № 4. – С. 12-16.

3. Слесарева, К.В. Особенности клинического профиля пациенток репродуктивного возраста с наружным генитальным эндометриозом [Текст] / К.В. Слесарева, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, **Л.Р. Томай**, Л.В. Колесникова, Н.Н. Скачков, И.В. Маркарьян // Медицинский вестник Юга России. – 2013. – № 4. – С. 142-145.

4. Томай, Л.Р. Значение протеомного анализа перитонеальной жидкости в выяснении патогенеза эндометриоза [Текст] / **Л.Р. Томай**, В.О. Гунько, Т.Н.

Погорелова, Н.В. Ермолова, В.А. Линде // Проблемы репродукции. – 2014. – Том 20, № 2. – С. 52-56.

5. Патент 2526823 Российская Федерация, МПК G01N 33/53 (2006.1), G01N 33/50 (2006.01), G01N 33/48 (2006.01) Способ диагностики наружного генитального эндометриоза / Л.В. Колесникова, А.В. Ширинг, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, И.В. Маркарьян, Н.Н. Скачков, **Л.Р. Томай**, К.В. Слесарева; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение "Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2526823; заявл. 05.08.2013; опубл. 27.08.2014, Бюл. № 24. – 6 с.

6. Томай, Л.Р. Протеомные маркеры в диагностике эндометриоза [Текст] / **Л.Р. Томай**, В.А. Линде, В.О. Гунько, Н.В. Ермолова, Т.Н. Погорелова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Том LXIII. – С. 39-40.

7. Томай, Л.Р. Роль протеомного дисбаланса перитонеальной жидкости в патогенезе наружного генитального эндометриоза [Текст] / **Л.Р. Томай**, В.А. Линде, Н.В. Ермолова, В.О. Гунько, Т.Н. Погорелова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/120-17171>.

8. Маркарьян, И.В. Морфометрические характеристики эутопического и эктопического эндометрия у больных с перитонеальным эндометриозом [Текст] / И.В. Маркарьян, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, В.Ю. Мажугин, Л.В. Колесникова, **Л.Р. Томай**, К.В. Слесарева // Проблемы репродукции. – 2015. – Том 21, № 6. – С. 103-107.

9. Патент 2571291 Российская Федерация, МПК G01N 33/48 (2006.01) Способ диагностики ранних стадий наружного генитального эндометриоза / Линде В.А., Томай Л.Р., Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Ермолова Н.В.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение "Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2571291; заявл. 15.08.2014; опубл. 20.12.2015, Бюл. № 35. – 9 с.

Публикации в журналах, сборниках, материалах конференций и тезисы докладов:

1. Слесарева, К.В. К вопросу о патогенезе наружного генитального эндометриоза [Текст] / К.В. Слесарева, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, Л.В. Колесникова, **Л.Р. Томай** // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2013. – № 1. – С.18-22.

2. Слесарева, К.В. Значение клеточных биорегуляторов ангиогенеза в формировании наружного генитального эндометриоза и его стадий у пациенток

репродуктивного возраста [Текст] / К.В. Слесарева, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, Л.В. Колесникова, **Л.Р. Томай**, Н.Н. Скачков, И.В. Маркарьян // Материалы XIV Всероссийского научного форума «Мать и Дитя». – Москва, 2013. – С. 391-392.

3. Ермолова, Н.В. Полиморфизм генов параоксоназы и NO-синтазы у больных репродуктивного возраста с наружным генитальным эндометриозом [Текст] / Н.В. Ермолова, В.А. Линде, Л.В. Колесникова, А.В. Ширинг, К.В. Слесарева, **Л.Р. Томай**, И.В. Маркарьян, Н.Н. Скачков // Материалы VI Общероссийского научно-практического семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии». – Сочи, 2013. – С.27-28.

4. Колесникова, Л.В. Роль ядерного фактора NF-kB в развитии воспалительного процесса органов малого таза при наружном генитальном эндометриозе [Текст] / Л.В. Колесникова, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, А.В. Ширинг, К.В. Слесарева, **Л.Р. Томай**, Н.Н. Скачков // Материалы VII Международного конгресса по репродуктивной медицине. – Москва, 2013. – С.64-65.

5. Ermolova, N.V. Peculiarities of low-density and high-density lipoproteins interaction in external genital endometriosis [Text] / N.V. Ermolova, L.V. Kolesnikova, V.A. Linde, I.V. Markaryan, A.V. Shiring, K.V. Slesareva, **L.R. Tomay**, N.N. Skachkov // 4th Nordic Congress on Endometriosis in Turku. – Finland, 2013. – P 18.

6. Линде, В.А. Значение нарушения продукции цитокинов и липидов в формировании наружного генитального эндометриоза [Текст] / В.А. Линде, Н.В. Ермолова, Л.В. Колесникова, А.В. Ширинг, К.В. Слесарева, Н.Н. Скачков, И.В. Маркарьян, **Л.Р. Томай** // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Том 16, № 2. – ч.2(62). – С. 57-61.

7. Колесникова, К.В. Значение нарушения продукции липидов в формировании наружного генитального эндометриоза [Текст] / Л.В. Колесникова, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, А.В. Ширинг, К.В. Слесарева, И.В. Маркарьян, **Л.Р. Томай**, Н.Н. Скачков // Материалы региональной научно-практической конференции «Приоритетные задачи охраны репродуктивного здоровья и пути их решения». – Ростов-на-Дону, 2013. – С. 40-42.

8. Слесарева, К.В. Значение ТФР-β1 в патогенезе наружного генитального эндометриоза [Текст] / К.В. Слесарева, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, Л.В. Колесникова, И.В. Маркарьян, **Л.Р. Томай**, Н.Н. Скачков // Материалы региональной научно-практической конференции «Приоритетные задачи охраны репродуктивного здоровья и пути их решения». – Ростов-на-Дону, 2013. – С.112-114.

9. Линде, В.А. Постгеномные технологии в изучении спектра белков перитонеальной жидкости при эндометриозе [Текст] / В.А. Линде, **Л.Р. Томай**, Н.В. Ермолова, В.О. Гунько, Т.Н. Погорелова // Материалы VII регионального научного форума «Мать и Дитя». – Геленджик, 2014. – С. 237-238.

10.Слесарева, К.В. Полиморфизмы генов параоксоназы и NO-синтазы у больных репродуктивного возраста с наружным генитальным эндометриозом [Текст] / К.В. Слесарева, В.А. Линде, Л.В. Колесникова, Н.В. Ермолова, Н.В. Кривенцова, **Л.Р. Томай**, И.В. Маркарьян, Н.Н. Скачков // Материалы VIII Международного конгресса по репродуктивной медицине. – Москва, 2014. – С. 314-315.

11.Томай, Л.Р. Поиск белков-маркеров эндометриоза с помощью протеомных исследований перитонеальной жидкости [Текст] / **Л.Р. Томай**, В.А. Линде, Н.В. Ермолова, В.О. Гунько, Т.Н. Погорелова // Материалы II региональной научно-практической конференции «Приоритетные задачи охраны репродуктивного здоровья и пути их решения». – Ростов-на-Дону, 2014. – С. 128-129.

12.Линде, В.А. Модификация протеомного спектра перитонеальной жидкости при эндометриозе [Текст] / В.А. Линде, **Л.Р. Томай**, В.О. Гунько, Т.Н. Погорелова, Н.В. Ермолова // Материалы Международного медицинского форума «Репродуктивное здоровье: проблемы, пути, решения и достижения». – Судак, 2014. – С. 71-75.

13.Томай, Л.Р. Идентификация протеомных маркеров наружного генитального эндометриоза [Текст] / **Л.Р. Томай**, В.А. Линде, Н.В. Ермолова, В.О. Гунько, Т.Н. Погорелова // Материалы XV Всероссийского научного форума «Мать и Дитя». – Москва, 2014. – С. 336-337.

14.Ermolova, N. Correlation of changes in cellular bioregulators in case of external genital endometriosis in the patients of reproductive age [Text] / N. Ermolova, V. Linde, L. Kolesnikova, N. Drukker, I. Markaryan, **L. Tomay**, K. Slesareva, A. Shiring, N. Skachkov // Fertility and Sterility. – 2014. – Vol. 102. – № 3S. – P. E291.

15.Linde, V.A. Proteomic analysis of peritoneal fluid in identification of endometriosis markers [Text] / V.A. Linde, N.V. Ermolova, **L.R. Tomay**, V.O. Gunko, T.N. Pogorelova // BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. – 2014. –Vol.121, Suppl. S2. – P. 42-43.

16.Маркарьян, И.В. Маркеры пролиферации и апоптоза при наружном генитальном эндометриозе [Текст] / И.В. Маркарьян, Н.В. Ермолова, В.А. Линде, В.Ю. Мажугин, Н.А. Друккер, Л.В. Колесникова, **Л.Р. Томай**, К.В. Слесарева, Н.Н. Скачков // Таврический медико-биологический вестник. – 2015. – Том 18, № 1(69). – С. 145-149.

17.Ermolova, N.V. Search for protein markers of endometriosis by proteomic studies of peritoneal fluid [Text] / N.V. Ermolova, **L.R. Tomay**, V.A. Linde, V.O. Gunko, T.N. Pogorelova // Journal of Endometriosis and Pelvic Pain Disorders. –2015. – Vol. 7, Suppl. 1. – P. S19.

18.Linde, V.A. Detection of proteomic markers of endometriosis [Text] / V.A. Linde, N.V. Ermolova, **L.R. Tomay**, V.O. Gunko, T.N. Pogorelova // BJOG: An

International Journal of Obstetrics & Gynaecology. – 2015. – Vol. 122, Issue S1. – P. 85.

19. Томай, Л.Р. Значение протеомного дисбаланса перитонеальной жидкости и влияние на апоптоз при наружном генитальном эндометриозе [Текст] / Л.Р. Томай, В.А. Линде, Н.В. Ермолова, В.О. Гунько, Т.Н. Погорелова // Материалы XVI Всероссийского научного форума «Мать и Дитя». – Москва, 2015. – С. 214.

20. Маркарьян, И.В. Значение маркеров пролиферации и апоптоза в формировании наружного генитального эндометриоза [Текст] / И.В. Маркарьян, Н.В. Ермолова, Л.В. Колесникова, Л.Р. Томай, А.В. Ширинг, К.В. Слесарева, Е.М. Александровна // Материалы II региональной научно-практической конференции «Нейроэндокринная патология. Вопросы репродукции человека». – Ростов-на-Дону, 2016. – С.14-22.

21. Томай, Л.Р. Количественное определение белков-маркеров сыворотки крови и перитонеальной жидкости при наружном генитальном эндометриозе [Текст] / Л.Р. Томай, В.А. Линде, Н.В. Ермолова, В.О. Гунько, Т.Н. Погорелова, К.В. Слесарева // Материалы X Юбилейного Международного конгресса по репродуктивной медицине. – Москва, 2016. – С. 111-113.

Список сокращений

Апо-AIV – аполипопротеин AIV

ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза

ГСПГ – глобулин, связывающий половые гормоны

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

ИФА – иммуноферментный анализ

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

СЭФР – сосудисто-эндотелиальный фактор роста

СЭФР-R1 – рецептор сосудисто-эндотелиального фактора роста 1 типа

sFASL – растворимая форма FAS лиганда

Mm – молекулярная масса

MALDI-TOF-MS – matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry – матрично-ассоциированная лазерная десорбция/ ионизация времяпролетная масс-спектрометрия

NCBI – National Centre for Biotechnology Information – Национальный центр биотехнологической информации США

NK – natural killers – естественные киллеры

pI – изоэлектрическая точка

r-AFS – revised Classification of American Fertility Society – пересмотренная классификация Американского общества фертильности

ROC – receiver operating characteristic – характеристические кривые распределения

AUC – area under ROC-curve – площадь под ROC-кривой

