

На правах рукописи

**Романов
Владимир Николаевич**

**РОЛЬ ЭНДОГЕННЫХ ПРОТЕАЗ
В ПАТОГЕНЕЗЕ НАРУЖНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА**

14.00.01 – акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Иваново - 2004

2005-4
49254

На правах рукописи

**Романов
Владимир Николаевич**

**РОЛЬ ЭНДОГЕННЫХ ПРОТЕАЗ
В ПАТОГЕНЕЗЕ НАРУЖНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА**

14.00.01 – акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Иваново - 2004

974500

Работа выполнена в ГУ «Ивановский научно-исследовательский институт
материнства и детства им. В.Н. Городкова» МЗ РФ

Научный руководитель:
Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор

Посисеева
Любовь Валентиновна

Научный консультант:
доктор медицинских наук,
профессор

Назаров
Сергей Борисович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

Качалина Татьяна Симоновна

Кандидат медицинских наук, доцент

Данилов Сергей Аркадьевич

Ведущая организация: ГОУ ВПО «Российский государственный
медицинский университет» МЗ РФ

Защита диссертации состоится «20» сентября, 2005 года, в «___»
часов на заседании диссертационного совета К 208.028.01 при ГУ «Ивановский
научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова»
МЗ РФ по адресу: 153731, г. Иваново, ул. Победы, 20

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГУ «Ивановский НИИ
материнства и детства им. В.Н. Городкова» МЗ РФ

Автореферат разослан «18» декабря 2004 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
кандидат медицинских наук,

И.А. Панова



Актуальность проблемы.

Актуальность исследования наружного эндометриоза определяется не только высокой частотой встречаемости этого заболевания в популяции - от 12 до 60% (Адамян Л.В., Кулаков В.И., 1998; Kichukova D. et al., 2000; Poppe K., Velkeniers B., 2003), но и его ассоциацией с бесплодием - в 20-80% случаев (Адамян Л.В., Кулаков В.И., 1998; Айламазян Э.К. и др., 2002; Sinaïi N. et al., 2002; Geber S., 2002), нарушением качества жизни женщины (Рухляда Н.Н., Цвелев Ю.В., 2002).

Несмотря на многолетние интенсивные изучения этиологии и патогенеза эндометриоза, до сих пор не совсем ясны причины, вызывающие имплантацию и дальнейшее распространение эктопированного эндометрия на брюшине (Адамян Л.В., Кулаков В.И., 1998, Вихляева Е.М., 2000; Koninckx P., 1999). Также не описаны чётко причины бесплодия при эндометриозе, они остаются на уровне научных гипотез, при этом отдельные авторы не относят наружный эндометриоз к причинам инфертильности (Donnez J., Wyns C., Nisolle M., 2002; Gomez-Torres M.J. et al., 2002; Trinder J., Cahill D.J., 2002).

В последние десятилетия интенсивно изучается роль перитонеальной жидкости в патогенезе наружного эндометриоза. Одни авторы указывают на наличие выраженных сдвигов в системе местного иммунитета при наружном эндометриозе (Посисеева Л.В., Шор А.Л., 1998; Barlow D.A., 1996), в гормональном и цитокиновом обменах (Barlow D.A., 1999; Oosterlynck G., 1999; Badawy S., 2000), тогда как другие не находят каких-либо отличий в состоянии перитонеальной жидкости при данном заболевании (Алиханова З.Л., 1991; Witz C.A., Burns W.N., 2002). Неясным остается вопрос о механизмах межклеточных взаимодействий при наружном эндометриозе (Савицкий Г.А., Копичев В.Г., Горбушин С.М., 1999; Волков Н.И., 1999). Одним из факторов межклеточных взаимодействий являются эндогенные протеазы, как одни из составляющих частей системы гемостаза. Эти биологически активные субстанции играют основополагающую роль в развитии многих пролиферативных заболеваний и в процессах метастазирования (Czerwenka K.F. et al., 2001; Zang Y. et al., 2001) В клинической практике изучение их активности, в частности, катепсина D, используют в прогностических целях для определения потенциальной злокачественности и способности к метастазированию; антитромбин III, тромбин, плазмин нашли применение в оценке системы гемостаза на системном уровне. В литературе за последнее время появились единичные работы, указывающие на возможность вовлечения в патогенез развития наружного эндометриоза эндогенных протеаз перитонеальной жидкости (Koutsilieris M , Lavergne E , Lemay A , 1997). Однако, в этих исследованиях не освещается состояние системы эндогенных протеаз на системном уровне

и в эндометрии у женщин с наружным эндометриозом, не указаны возможности использования полученных данных в клинической практике.

Таким образом, актуальным является изучение состояния системы эндогенных протеаз на системном и локальном уровнях у женщин с наружным эндометриозом и разработка методов диагностики данного заболевания.

Цель: Установить клиничко-патогенетическое значение системы эндогенных протеаз при наружном эндометриозе на системном и локальном уровнях и разработать новые методы диагностики этого заболевания.

Задачи исследования:

1. Установить особенности коагуляционного звена гемостаза и протеазной активности на системном уровне (в периферической крови) у женщин с наружным генитальным эндометриозом.
2. Определить показатели активности системы эндогенных протеаз на локальном уровне (в перитонеальной жидкости) у здоровых женщин и больных наружным генитальным эндометриозом
3. Выявить особенности активности катепсина D в эндометрии у женщин с наружным эндометриозом
4. На основании выявленных нарушений разработать новые способы диагностики наружного генитального эндометриоза.

Научная новизна исследования:

Впервые изучена активность эндогенных протеаз у здоровых женщин и у женщин с наружным генитальным эндометриозом как на системном, так и локальном уровнях. Определены в перитонеальной жидкости нормативные показатели α 2-макроглобулина, протеина С, плазминогена, D-димера, гаптоглобина, кислого α 1-антитрипсина и активности катепсина D и АТ III.

Установлено, что при наружном эндометриозе изменяются концентрации и активность протеаз и их ингибиторов на системном и локальном уровнях. В периферической крови у женщин повышается активность АТ III и содержание α 2-макроглобулина, снижается уровень плазминогена. Выявлена связь между содержанием α 2-макроглобулина и стадией эндометриозидного процесса, при этом максимальный уровень его отмечается при I стадии, минимальный – при IV стадии. В перитонеальной жидкости снижается активность катепсина D, АТ III, содержание плазминогена, гаптоглобина, протеина С, кислого α 1-антитрипсина и повышается содержание D-димера и α 2-макроглобулина. В эндометрии имеет место снижение активности катепсина D

Установлено наличие коагуляционного потенциала перитонеальной жидкости как у здоровых женщин, так и у женщин с наружным эндометриозом, причём у больных этот потенциал выражен значительно сильнее

Практическая значимость: разработаны и предложены для клинической лабораторной практики нормативные показатели активности катепсина D в сыворотке крови, перитонеальной жидкости, эндометрии; в перитонеальной жидкости - АТ III, содержания α 2-макроглобулина, протеина С, плазминогена, D-димера, гаптоглобина, кислого α 1-антитрипсина

Для акушерско-гинекологической практики предложен способ ранней диагностики наружного эндометриоза, основанный на определении активности катепсина D в биоптате эндометрия и способ дифференциальной диагностики стадии наружного эндометриоза, основанный на определении концентрации α 2-макроглобулина в сыворотке венозной крови.

Положения, выносимые на защиту.

1. Наружный эндометриоз сопровождается изменением содержания и активности эндогенных протеаз и их ингибиторов как на системном (сыворотка венозной крови), так и на локальном уровне (перитонеальная жидкость и эндометрий)
2. Показатели α 2-макроглобулина в сыворотке венозной крови могут служить диагностическим критерием степени тяжести эндометриозидного процесса, а активности катепсина D в эндометрии – критерием ранней диагностики наружного генитального эндометриоза.

Внедрение результатов исследования в практику: получены положительные решения на выдачу патента на изобретение: «Способ ранней диагностики наружного эндометриоза» и «Способ диагностики степени наружного эндометриоза», которые внедрены в диагностическую практику гинекологической клиники ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» МЗ РФ. Результаты работы используются в учебном процессе на кафедре акушерства, гинекологии и медицинской генетики ГОУ ВПО «ИвГМА» МЗ РФ в цикле «гинекология».

Апробация работы: результаты диссертации доложены на IV Российском форуме «Мать и дитя» (Москва, 2002); на научно-практической конференции «Актуальные проблемы лабораторной и функциональной диагностики в акушерстве, гинекологии и перинатологии» (Иваново, 2002); на Международном конгрессе «Профилактика, диагностика и лечение гинекологических заболеваний» (Москва, 2003).

Публикации: по теме диссертации опубликовано 3 печатные работы.

Личное участие автора: автором самостоятельно произведены диагностические и лечебные лапароскопии всем обследованным больным, более чем у двух третей женщин, вошедших

в группы исследования, автор лично забирал для исследования перитонеальную жидкость и биоптаты эндометрия. Автором лично заполнялись индивидуальные карты наблюдений, лично производился статистико-математический обчёт полученных данных.

Структура и объём диссертации: диссертация изложена на 144 листах машинописного текста, содержит введение, обзор литературы, материалы и методы, шесть глав собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации. Библиографический указатель включает 94 отечественных и 109 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 7 рисунками и 11 таблицами.

Материалы и методы исследований.

Обследованы 126 женщин, поступивших в гинекологическую клинику ГУ ИвНИИ Мид им. В.Н. Городкова МЗ России, из них: - 32 практически здоровые женщины с нормальной репродуктивной функцией в супружеской паре (I клиническая группа), - 94 женщины с наружным генитальным эндометриозом в сочетании с бесплодием (II клиническая группа). Из них с I стадией наружного эндометриоза 16 женщин, со II стадией - 38 женщин, с III стадией - 25 женщин, IV стадией - 15 женщин.

Женщины I клинической группы наблюдения поступали в отделение эндоскопической хирургии для плановой хирургической стерилизации по социальным показаниям согласно приказу МЗ РФ № 303 от 1993 г. Перед проведением оперативного вмешательства женщины данной группы обследовались в женских консультациях г. Иваново и Ивановской области, в консультативно-диагностической поликлинике НИИ Мид.

Женщины с наружным генитальным эндометриозом и бесплодием обследовались на специализированном приеме в КДП ГУ «ИвНИИ Мид им. В.Н. Городкова» МЗ РФ, в эндокринологическом отделении гинекологической клиники НИИ Мид. Учитывались результаты предыдущих исследований.

На каждую женщину заполнялась "Регистрационная карта женщины", куда выкопировывались данные обследования, а также данные из историй болезни и амбулаторных карт наблюдения.

Непосредственным материалом для исследования служили:

- периферическая венозная кровь, в которой определялись активность катепсина D (по индексу протеолиза 1% раствора гемоглобина в ацетатном буфере); активность антитромбина III, концентрация плазминогена, протеина С - по расщеплению хромогенного субстрата, содержание α_2 -макроглобулина - по реакции со специфическими антителами; содержание D-димера, гаптоглобина и кислого α_1 -антитрипсиона - турбодиметрическим способом, АПТВ, тромбиновое и протромбиновое время по стандартным методикам.
- перитонеальная жидкость, в которой определялись активность катепсина D (по индексу протеолиза 1% раствора гемоглобина в ацетатном буфере); активность антитромбина III,

концентрация плазминогена, протейна С - по расщеплению хромогенного субстрата; содержание α_2 -макроглобулина - по реакции со специфическими антителами, D-димера, кислого α_1 -антитрипсина, гаптоглобина - турбодиметрическим способом, активность тромбинового комплекса по показателям АПТВ, тромбиновое и протромбиновое время по стандартным методикам после внесения в «сливную» донорскую плазму.

– эндометрий, где исследовали активность катепсина D (по индексу протеолиза 1% раствора гемоглобина в ацетатном буфере после гомогенизации 0,2 г ткани и диспергировании гомогенизата в 1 мл буфера) и его морфологическую структуру со стандартной окраской гематоксилин-эозином.

Перитонеальная жидкость и биоптат эндометрия для исследования забирались в момент лапароскопии. Периферическая венозная кровь забиралась в день операции, непосредственно перед проведением оперативного вмешательства

Результаты работы и их обсуждение.

Возраст женщин основной группы был в пределах от 22 до 46 лет (в среднем $29,8 \pm 1,24$) года, в контрольной группе от 24 до 43 лет (в среднем $35,8 \pm 1,4$ года). Средний возраст наступления менархе составил $13,2 \pm 0,26$ года в основной группе и $12,9 \pm 0,31$ года в контрольной группе. Менструальная функция в виде регулярных менструальных циклов продолжительностью от 21 до 35 дней отмечалась у 96,81% женщин основной группы (средняя продолжительность $27,04 \pm 0,5$ дня) и у 96,88% женщин контрольной группы (средняя продолжительность $27,6 \pm 0,83$ дня). Нарушение менструального цикла по типу олигоменореи имело место у 3,19% женщин в основной группе и у 3,12% женщин в контрольной группе. Длительность менструального кровотечения не превышала 7 дней у всех женщин и составила, в среднем, $5,12 \pm 0,27$ дня в основной группе и $4,41 \pm 0,41$ дня в контрольной группе.

Репродуктивная функция была реализована у 33,22% женщин в основной группе и у 100% женщин в контрольной группе ($p < 0,01$). Среднее количество беременностей на одну женщину составило в основной группе $3,0 \pm 1,1$, в контрольной группе $5,25 \pm 0,5$. Физиологические роды имели 12,8% женщин в основной группе и 100% женщин в контрольной группе. В среднем на каждую женщину в основной группе пришлось $1,33 \pm 0,3$ родов, в контрольной группе $1,91 \pm 0,2$ родов. Медицинские абортыв имели в анамнезе 25,53 женщин в основной группе и 90,63% женщин в контрольной группе. Среднее количество абортов составило $3,16 \pm 1,07$ в основной группе и $3,18 \pm 0,5$ в контрольной. Самопроизвольные выкидыши имели место у 4,25% женщин в основной группе, в контрольной группе данной патологии не отмечено. В основной группе бесплодием страдали 66,78% женщин, при этом первичным бесплодием было у 67% женщин, вторичным 33% женщин. В среднем период

бесплодия составил $6,11 \pm 0,54$ года с индивидуальными колебаниями данного показателя от 1 года до 15 лет. Все женщины в контрольной группе были фертильными, что достоверно отличает ее от основной группы ($p < 0,001$)

Различными методами и способами контрацепции пользовались 100% женщин контрольной группы и 30,85% женщин основной группы.

Гинекологическую патологию в анамнезе отмечали 34,37% женщин контрольной группы и 30,85% женщин основной группы. Острый аднексит отмечали 15,63% женщин контрольной группы и 12,76% женщин основной группы; острый эндометрит - 3,12% женщин контрольной группы и 3,18% основной группы; 12,48% женщин контрольной группы и 12,76% женщин основной группы подвергались диатермо- или криодеструкции эрозии шейки матки. Функциональные кисты яичников имели место у 3,12% женщин контрольной группы и 2,12% женщин основной.

При предоперационном обследовании и в момент лапароскопии в контрольной группе исследования органическая генитальная патология была выявлена у 40,6% женщин, в основной группе у 100% женщин. Наиболее часто в контрольной группе встречалась эрозия шейки матки - 12,5% женщин; спаечный процесс придатков матки, как проявление перенесенного ранее острого сальпингита - 9,37%; миома матки обнаружена у 6,25% женщин; другая патология представлена единичными случаями. Во второй клинической группе у всех женщин был выявлен наружный эндометриоз, что достоверно отличает её от группы контроля ($p < 0,05$) Частота другой сопутствующей гинекологической патологии была в обеих группах сопоставима.

Разнообразные клинические проявления эндометриоза в виде болевого синдрома: альгодисменореи, диспареунии, дисхезии, постоянные боли внизу живота и бесплодия - отмечали 100% женщин. Наиболее частым проявлением наружного эндометриоза в группе исследования был болевой синдром - 78,72%; альгодисменорея имела место у 44,68% женщин, жалобы на диспареунию были у 31,91% женщин, на дисхезию у 10,67%. Клинические проявления в виде только одного из симптомов имели место у 30,85% женщин. Наиболее полная клиническая картина наружного эндометриоза имела место у 8,48% женщин и заключалась в сочетании альгоменореи, диспареунии, дисхезии и бесплодия. Вторым по частоте встречаемости симптомом было бесплодие - у 66,78% женщин.

На момент оперативного вмешательства острая экстрагенитальная патология в обеих группах отсутствовала; хронической экстрагенитальной патологией страдали 43,75% женщин контрольной группы, и 50% женщин основной группы. Наиболее часто среди женщин в контрольной и основной группах имела место патология желудочно-кишечного тракта - 18,75% и 21,7% соответственно. Второй по частоте встречаемости была патология дыхательной системы в виде хронического бронхита - 9,36% женщин контрольной группы и 10,6% женщин

основной группы Патология мочевыделительной системы имела место у 6,24% женщин контрольной группы и у 8,51% женщин основной группы В несколько меньшем проценте случаев в группах исследования встречалась патология сердечно-сосудистой системы – 6,24% женщин в контрольной группе и 7,45% женщин в основной группе, и патология нервной системы – 3,12% и 2,13% женщин соответственно

Ранее оперативному лечению по поводу острого аппендицита, острого холецистита и желчекаменной болезни подвергались 18,75% женщин контрольной группы и 21,27% женщин основной группы Аллергические реакции в виде непереносимости антибиотиков, витаминов, новокаина и некоторых пищевых продуктов отмечали 15,632% женщин контрольной группы и 18,08% женщин основной группы

Таким образом, сравнительная характеристика фертильных женщин и больных с наружным генитальным эндометриозом показала, что достоверные различия между группами имеют место в реализованности генеративной функции и в наличие наружного генитального эндометриоза различной степени тяжести Как следствие этого, у женщин основной группы, в отличие от группы контроля, часто имело место бесплодие и специфические, характерные для наружного эндометриоза, клинические проявления Различий по частоте сопутствующей гинекологической патологии выявленной при обследовании не обнаружено. По характеру и структуре экстрагенитальной патологии, по частоте оперативных вмешательств обе группы не различались между собой

Как показали исследования, в обеих группах АПТВ, тромбиновое время и протромбиновый индекс были в пределах физиологической нормы и не различались между собой в группе женщин с наружным эндометриозом показатели АПТВ составили в среднем $38,07 \pm 2,01$ с., в контрольной группе - $42,66 \pm 4,5$ с, тромбинового времени - $16,62 \pm 0,47$ сек и $16,65 \pm 2,3$ сек, протромбинового индекса $94,25 \pm 1,31\%$ и $91,00 \pm 2,3\%$ соответственно по группам Это свидетельствует о сохранности компенсации на системном уровне.

Однако, несмотря на нормальные показатели в системе коагуляционного звена гемостаза, у женщин с наружным эндометриозом имеются некоторые сдвиги в антикоагуляционном звене гемостаза, в частности, в показателях протеина С, АТ III, α_2 -макроглобулина. Так в большинстве наблюдений (63,83%) индивидуальные показатели протеина С превышали параметры общепринятой нормы, хотя средний его показатель во II группе не отличался от группы контроля: $107,5 \pm 14,93\%$ и $106,0 \pm 20,0\%$. Это может косвенно свидетельствовать о повышенной активности тромбина. Однако, несмотря на повышение активности тромбина, не происходит развития выраженной гиперкоагуляции за счёт повышения показателей АТ III и α_2 -макроглобулина. Так, активность АТ III в сыворотке венозной крови у женщин с наружным эндометриозом несколько выше, чем в группе контроля - $127,37 \pm 7,13\%$ (в группе контроля - $94,34 \pm 2,7\%$, $p < 0,05$) По нашему мнению основную роль

ингибирования тромбиновой активности при наружном эндометриозе берёт на себя такой неспецифический ингибитор протеазной активности как α_2 -макрोगлобулин. Его содержание в сыворотке венозной крови, существенно повышенное (в среднем в группе с наружным эндометриозом - $474,06 \pm 22,16$ мг/дл) уже с самых ранних стадий наружного эндометриоза, постепенно снижается с углублением процесса, причём это снижение сильно коррелирует со степенью тяжести наружного эндометриоза ($r = -0,72$; $p < 0,05$), что позволило использовать данный показатель как способ дифференциальной диагностики степени наружного эндометриоза. Использование предлагаемого способа позволяет диагностировать степень наружного эндометриоза с точностью 92,9%.

Этим повышением α_2 -макрोगлобулина можно объяснить и то, что абсолютные показатели катепсина D имеют наиболее низкую активность при ранних стадиях наружного эндометриоза: $0,03 \pm 0,008$ Еаф/ч. При этом средние показатели катепсиновой активности не различались между собой в группах исследования: контроль - $0,054 \pm 0,006$ Еаф/ч, II группа - $0,051 \pm 0,004$ Еаф/ч, в то же время в 12,76% показатели колебались от 0,1 до 0,193 Еаф/ч, что превышает показатели, характерные для группы контроля. Также как и активность катепсина D, концентрация гаптоглобина существенно не отличалась у женщин с наружным эндометриозом. Его средние концентрации составили в группе контроля $100,0 \pm 11,17$ мг/дл, во II группе - $109,01 \pm 18,00$ мг/дл.

В группе женщин с наружным эндометриозом происходит некоторое снижение содержания плазминогена до $108,0 \pm 5,82\%$ (в группе контроля - $169,0 \pm 18,0\%$, $p < 0,01$), что может свидетельствовать о повышении его потребления на образование плазмина либо о повышенном его потреблении на локальном уровне. Однако, судя по содержанию D-димера, который никак не меняет своих концентраций в группе женщин с наружным эндометриозом ($0,42 \pm 0,07$ мкг/дл) по сравнению с группой контроля ($0,40 \pm 0,05$ мкг/дл), повышения плазминовой активности в сыворотке венозной крови не происходит. В результате этого не претерпевает изменений и активность ингибитора плазмина - кислого $\alpha 1$ -антитрипсина. его средняя концентрация в группе женщин с наружным эндометриозом составила $153,1 \pm 10,07$ мкг/дл (в группе контроля - $146,83 \pm 11,82$ мкг/дл). Однако теряется корреляционная связь между плазминогеном и кислым $\alpha 1$ -антитрипсином ($r = 0,04$), характерная для нормы ($r = -0,36$, $p < 0,05$). Снижение плазминогена можно объяснить его поступлением на локальный уровень, в ПЖ. Этим же объясняется и отсутствие корреляционной связи между плазминогеном и кислым $\alpha 1$ -антитрипсином.

Таким образом, у женщин с наружным эндометриозом в сыворотке венозной крови имеет место состояние полной компенсации в системе коагуляционного звена гемостаза, несмотря на некоторые сдвиги в антикоагуляционном звене, что проявляется повышением

активности протеина С в большинстве наблюдений, как продукта специфической активации тромбина и специфического ингибитора тромбина - АТ III, и неспецифического - α_2 -макроглобулина. Все эти изменения приводят к развитию компенсации, в связи с чем и не происходит повышенной гемокоагуляции: конечные этапы свёртывания не претерпевают существенных сдвигов, о чём свидетельствуют нормальные показатели D-димера, несмотря на то, что функциональные взаимосвязи между протеазами и их ингибиторами при наружном эндометриозе изменяются. Существенно усиливалась, меняя свою направленность, корреляционная связь между показателями активности АТ III и АПТВ - $r=0,7$, $p<0,05$ (контроль - $r=-0,38$; $p<0,05$) и ослабевала связь с протромбиновым временем - $r=-0,35$; $p<0,05$ (контроль - $r=0,99$; $p<0,05$). Ослабевала корреляция между сывороточными концентрациями катепсина D и гаптоглобина - $r=0,53$; $p<0,05$ (контроль - $r=0,9$, $p<0,05$), между активностью катепсина D и содержанием α_2 -макроглобулина - $r=-0,38$; $p<0,05$ (контроль - $r=-0,42$; $p<0,05$). Полностью исчезали корреляционные связи между плазминогеном и такими ингибиторами как гаптоглобин, кислый α_1 -антитрипсин и АТ III.

Локальный уровень нами изучался по показателям ферментной активности ПЖ и эндометрия. Для оценки некоторых изучаемых параметров в ПЖ нами использовалась сливная сыворотка здоровых доноров, которая вносилась в ПЖ. По характеру изменения хронометрических тестов плазменно-коагуляционного звена гемостаза в плазме донорской крови, после её внесения в ПЖ здоровых и больных эндометриозом женщин, характеризовался коагуляционный потенциал ПЖ. Выявлено, что ПЖ как здоровых женщин, так и больных наружным эндометриозом усиливает коагуляционный потенциал плазмы донорской крови. Значительно укорачивается АПТВ: контрольная группа - $38,16\pm 3,11$ сек, II группа - $29,27\pm 2,5$ сек (показатели сливной плазмы доноров - 57 сек.) $p<0,01$. Однако средние показатели тромбинового и протромбинового времени существенно не различаются в группах.

Продукты системы плазминоген-плазмин в ПЖ определялись без внесения каких-либо вспомогательных субстратов. Так, если в группе контроля показатели активности плазминогена колебались в пределах от 71% до 175%, со средним показателем $104,0\pm 18,68\%$, то у женщин с наружным эндометриозом этот уровень был существенно снижен, составляя $43,95\pm 6,7\%$, с колебаниями индивидуальных показателей от 0,00% до 119,00%, причём за пределами, характерными для группы контроля, находилось подавляющее число наблюдений - 82,97%. Это снижение плазминогена может быть объяснено либо повышенным потреблением, либо врождённым дефектом его синтеза. Однако, врождённые дефекты синтеза плазминогена исключены по показателям сыворотки крови, в то же время повышенное его потребление на синтез плазмينا доказывается резким возрастанием у женщин с наружным эндометриозом в ПЖ продукта деятельности плазмينا - D-димера. Средний показатель D-димера в группе

женщин с эндометриозом составил $7,39 \pm 0,66$ мкг/дл, тогда как в группе здоровых женщин аналогичный показатель был равен $0,88 \pm 0,19$ мкг/дл и не превышал $2,56$ мкг/дл в индивидуальных наблюдениях. Однако повышение D-димера нельзя отнести за счёт повышения фибринолиза. Данное повышение плазминовой активности очень важно с точки зрения развития патогенеза эндометриоза. Повышенная плазминовая активность на локальном уровне (ПЖ) облегчает внедрение клеток эндометрия за счёт разобщения контактов в межклеточном матриксе брюшинного покрова. По-видимому, повышение D-димера в ПЖ происходит из-за распада белков межклеточного матрикса под действием плазмина. Повышение плазминовой активности можно объяснить снижением ингибирующего действия его инактиватора - кислого K1-антитрипсина. Его средняя концентрация в ПЖ в группе женщин с наружным эндометриозом была существенно ниже, чем в группе контроля ($149,6 \pm 15,52$ мкг/дл), составив $118,45 \pm 10,21$ мкг/дл. В 27,66% наблюдений индивидуальные его значения находились за нижней границей показателей, характерных для группы контроля.

Так же в ПЖ при наружном эндометриозе на порядок ниже, чем в норме активность протеина С: $36,04 \pm 4,89\%$ (контроль - $103,16 \pm 22,4\%$) Также были снижены у женщин с наружным эндометриозом и показатели активности АТ III по сравнению с женщинами из контрольной группы: $72,81 \pm 6,06\%$ (контроль - $98,2 \pm 2,56\%$) Этим снижением можно объяснить повышенный коагуляционный потенциал ПЖ у женщин с наружным эндометриозом: снижение активности специфического инактиватора тромбина - АТ III приводит к повышению тромбиновой активности и изменению показателей хронометрических тестов по гиперкоагуляционному типу.

В отличие от активности протеина С и АТ III, показатели концентрации α_2 -макроглобулина у женщин с наружным эндометриозом в ПЖ существенно превышают таковые у женщин из группы контроля $424,17 \pm 15,85$ мг/дл $147,2 \pm 23,37$ мг/дл соответственно по группам. Повышение концентрации α_2 -макроглобулина происходит, по-видимому, в ответ на снижение активности такого специфического ингибитора протеаз, как АТ III.

В ПЖ при наружном эндометриозе происходит значительное угнетение активности катепсина D. Так, в пределах, характерных для группы контроля, находилось лишь 14,89% наблюдений, а его средняя концентрация в группе женщин с наружным эндометриозом была на порядок ниже - $0,064 \pm 0,005$ Еаф/ч, тогда как в группе контроля его средний показатель был $0,215 \pm 0,018$ Еаф/ч с пределами колебаний от $0,115$ Еаф/ч до $0,411$ Еаф/ч. В ПЖ снижены и показатели гаптоглобина: его концентрация в среднем составила $38,98 \pm 6,87$ мг/дл, тогда как в группе контроля средняя концентрация данного белка составила $80,38 \pm 33,97$ мг/дл.

Таким образом, при наружном эндометриозе на локальном уровне имеют место значительные сдвиги в коагуляционном потенциале ПЖ. Это происходит за счёт снижения

активности таких антикоагулянтов как АТ III и протеин С В то же время при наружном эндометриозе имеют место существенные сдвиги в содержании плазминогена, который является источником образования плазмина: его резкое снижение можно объяснить именно повышенным потреблением на образование плазмина. Являясь одним из основных дезинтеграторов межклеточного матрикса, плазмин, повышая свою активность при наружном эндометриозе, приводит к развитию многих гомеостатических, биохимических и цитологических сдвигов. Так, повышение активности плазмина приводит к дестабилизации межклеточных соединений, повышенному неангиогенезу, повышенной клеточной активации в виде повышения протеолитического потенциала и клеточного ответа на стимуляцию. Сочетание повышения плазмина на фоне снижения активности его специфических ингибиторов и снижения цитопротективных свойств ПЖ, ввиду снижения концентрации протеина С, может происходить повышенная дезинтеграция межклеточного матрикса в мезотелиальном покрове брюшины, что облегчает последующую имплантацию клеток десквамированного эндометрия. Кроме разобщения межклеточных контактов плазмин, являясь регулятором неангиогенеза, вызывает повышенное образование сосудов при внедрении эндометриальных элементов в брюшину.

Полученные в нашем исследовании результаты можно рассматривать как еще одно подтверждение имплантационной теории наружного эндометриоза: дисбаланс в системе эндопептидаз и их ингибиторов приводит к повышенной дезинтеграции межклеточного матрикса, снижает устойчивость клеток мезотелия, облегчает имплантацию эндометриальных клеток в брюшину, повышает неангиогенез. Так же очень важный симптом - снижение катепсиновой активности в ПЖ. Кроме того, что катепсин D является непосредственным дезинтегратором ядерного вещества, эта пептидаза сама может запускать процессы апоптоза, активируя клеточные рецепторы. У женщин с наружным эндометриозом ПЖ теряет проапоптотическую активность, и десквамированные клетки эндометрия, попадая в неё, не подвергаются запрограммированной гибели.

При наружном эндометриозе существенно изменяет свои характеристики и слизистая оболочка матки. Так в большинстве наблюдений (66,67%) при гистологическом исследовании эндометрия имеют место проявления относительной или абсолютной гиперэстрогении, несоответствие стадий в стромальных эпителиальных элементах желёз эндометрия. Исследования активности катепсина D в эндометрии показало, что в этой ткани имеются существенные сдвиги активности данной протеазы. У женщин с наружным эндометриозом катепсиновая активность в эндометрии существенно подавлена, ее средний показатель в группе составил $0,089 \pm 0,007$ Еаф/ч, что на порядок ниже, чем в группе контроля, где средний показатель активности катепсина D составил $0,249 \pm 0,023$ Еаф/ч. Такое снижение активности данной протеиназы, на наш взгляд, может иметь большое значение в патогенезе развития наружного эндометриоза. В результате снижения катепсиновой активности клеток эндометрия

апоптотическая активность слизистой оболочки матки снижается и десквамированные клетки эндометрия не подвергаются запрограммированной гибели. Попадая в результате ретроградной менструации в брюшную полость, патологически изменённый эндометрий так же не подвергается гибели в силу того, что проапоптотические свойства ПЖ угнетены. Полученные данные позволили нам разработать способ ранней диагностики наружного эндометриоза.

Суммируя всё вышесказанное можно сказать, что развитие наружного эндометриоза сопровождается выраженными сдвигами в активности протеаз и их ингибиторов, причём эти сдвиги затрагивают как системный (сыворотка крови), так и локальный уровни (ПЖ, эндометрий). И если на системном уровне эти нарушения имеют место только в антикоагуляционном звене гемостаза и в системе катепсина D с его ингибитором, и здесь ещё имеет место компенсация, то на локальном уровне состояние компенсации утрачивается, и изменения отмечаются в коагуляционном потенциале ПЖ, антикоагуляционном звене, плазминовой системе и в системе катепсина D как в ПЖ, так и в эндометрии. Выявленные изменения являются основой двух новых способов диагностики наружного эндометриоза и могут стать теоретической основой для разработки новых подходов в лечении этого заболевания.

Выводы

1. У женщин с наружным генитальным эндометриозом на системном уровне отмечается увеличение активности АТ III, содержания α_2 -макроглобулина и снижение уровня плазминогена, при этом сохраняется нормокоагуляционное состояние системы гемостаза.
2. Перитонеальная жидкость здоровых фертильных женщин обладает коагуляционным потенциалом и приводит к укорочению АПТВ донорской плазмы. В перитонеальной жидкости здоровых фертильных женщин определены средние нормативные показатели протеаз и их ингибиторов, равные для катепсина D – $0,215 \pm 0,018$ Еаф/час, плазминогена – $104,0 \pm 18,68\%$, гаптоглобина – $80,38 \pm 33,97$ мг/дл, α_2 -макроглобулина – $147,2 \pm 23,37$ мг/дл, АТ III – $98,2 \pm 2,56\%$, протейна С – $103,16 \pm 22,4\%$, кислого α_1 - антитрипсина – $149,6 \pm 15,5$ мкг/дл, D- димера – $0,88 \pm 0,19$ мкг/дл.
3. У женщин с наружным эндометриозом коагуляционный потенциал перитонеальной жидкости усиливается, изменяется активность протеаз со снижением уровней катепсина D, АТ III, плазминогена, гаптоглобина, протейна С, кислого K1 антитрипсина и повышением показателей D-димера и K2-макроглобулина
4. Установлен средний нормативный показатель активности катепсина D в эндометрии у здоровых фертильных женщин, равный – $0,249 \pm 0,023$ Еаф/ч. У

женщин с наружным эндометриозом активность катепсина D в эндометрии снижается, но при этом остается выше, чем в сыворотке венозной крови

5. Показатели К2-макроглобулина в сыворотке венозной крови у женщин целесообразно использовать для дифференциальной диагностики стадии наружного генитального эндометриоза. Показатели активности катепсина D в эндометрии являются критериями ранней диагностики наружного генитального эндометриоза.

Практические рекомендации

1. Определение активности катепсина D в биоптате эндометрия рекомендуется использовать для ранней диагностики наружного эндометриоза. При значении катепсиновой активности 0,1 Еаф/ч и менее диагностируют наружный генитальный эндометриоз. Точность способа составляет 82,3%

2. Рекомендуется для диагностики степени наружного эндометриоза исследовать в сыворотке венозной крови уровень α_2 -макроглобулина и при его уровне от 600,0 мг/дл и выше диагностируют I степень, при значении от 599,0 до 480,0 мг/дл – эндометриоз II степени, от 479,0 до 360,0 мг/дл – эндометриоз III степени и от 359,0 мг/дл – эндометриоз IV степени. Точность способа – 92,5%

3. Реинфузию, излившейся в брюшную полость крови, возможно производить только с учётом показателей коагулограммы больной: при нормо- или гипокоагуляции по внутреннему пути образования протромбиназы.

Список опубликованных работ по теме диссертации.

1. Посисеева Л.В., Герасимов А.М., Шохина М.Н., Гришанкова М.А. Романов В.Н. Одно из звеньев патогенеза развития бесплодия при наружном эндометриозе // Материалы IV Российского форума «Мать и дитя»: тез. докл. – Москва. – 2002. – С. 309-311
2. Герасимов А.М., Посисеева Л.В., Романов В.Н. Катепсиновая активность у женщин с наружным эндометриозом. // Материалы научно-практ конф. «Актуальные проблемы лабораторной и функциональной диагностики в акушерстве, гинекологии и перинатологии». – Иваново. – 2002. – С. 140-142
3. Герасимов А.М. Романов В.Н. Посисеева Л.В. Особенности протеазной и антипротеазной активности перитонеальной жидкости у женщин с наружным эндометриозом // Международный конгресс «Профилактика, диагностика и лечение гинекологических заболеваний», Москва. – 2003. – С. 92-93



2 - - 178

РНБ Русский фонд

2005-4

49254