

Материал поступил в редакцию: 07-05-2015

Материал принят к печати: 17-06-2015

УДК 618;616:612.017.1

Prediction and diagnostics of endometriosis in women with infertility based on immunological markers

Halyna Koval, Maria Ivanchuk

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

The aim of this study: a determination of cytokines informative for predicting and diagnostics of the presence of endometriosis in women with infertility.

Methods: The main groups of 65 women with infertility associated with endometriosis have been researched as well as control group of 40 women with infertility of tubal genesis. The pre-defined levels of several cytokines (IL-2, INF- γ , TNF- α , IL-6, IL-10, TGF- β , IL-17, IL-1 β , IL-12, IL-18) in serum and peritoneal fluid. Identification of immunological markers informative for predicting and diagnostics of the presence of endometriosis in women with infertility was conducted using mathematical models for informative by Kulbaka, Valdivsky sequential analysis, cluster analysis and linear separation method of convex hulls. The indices for prediction were selected according to Uilkokson-Mann-Whitney criterion and have showed probable differences ($p < 0.05$) between the groups of patients with the presence and absence of endometriosis.

Results: the cytokines of peritoneal fluid has bigger value, than the cytokines of serum for predicting and diagnostics of the presence of endometriosis. But bigger practical value has the cytokines of serum, because collecting of peritoneal fluid is more invasions. The highest informative for endometriosis prediction was demonstrated by interleukin 6 and tumor necrosis factor- α cytokines.

Conclusion: IL-6 and TNF- α of serum can be used as immunological markers for predicting and diagnostics of the presence of endometriosis in women with infertility.

Keywords: Endometriosis – infertility – forecasting – diagnostics - cytokines

J Clin Med Kaz 2015; 1(35):23-29

Автор для корреспонденции: Коваль Галина Даниловна, Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина.

Тел.: +380505138110. E-mail: galinakoval1@rambler.ru, koval.halyna@bsmu.edu.ua

БЕДЕУЛІГІ БАР ӘЙЕЛДЕРДЕ ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ МАРКЕРЛЕР АРҚЫЛЫ ЭНДОМЕТРИОЗДЫ БОЛЖАУ МЕН ДИАГНОСТИКАЛАУ

Коваль Г., Иванчук М.

Буковинск мемлекеттік медициналық университеті, Черновцы, Украина

Зерттеудің мақсаты: Бедеулігі бар әйелдерде эндометриозды болжау мен диагностикалаудағы цитокиндердің диагностикалық маңызын анықтау.

Әдістері: Негізгі топта эндометриозбен қосақталған бедеулігі бар жалпы саны 65 әйел тексерілді. Бақылау тобында жатыр түтігі генезді бедеулікпен ауыратын 40 әйел болды. Алдын ала тексеруде әйелдердің қан сарысуы мен перитонеалды сұйықтығындағы цитокиндер (ИЛ-2, ИНФ- γ , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-10, ТФР- β , ИЛ-17, ИЛ-1 β , ИЛ-12, ИЛ-18) деңгейі анықталды. Бедеулігі бар әйелдерде эндометриозды болжау мен диагностикалаудағы цитокиндердің диагностикалық маңызын анықтау Кульбак және Вальдивский әдістері бойынша ақпараттылықтың математикалық модельдерін, кластерлік анализ бен дөңес қабықтарды сызықпен бөлу әдістері қолданылды. Болжам жасау үшін Уилкоксон-Манн-Уитни критеріі бойынша негізгі және бақылау тобының арасындағы анық айырмашылықты көрсететін ($p < 0,05$) көрсеткіштер іріктелді.

Нәтижесі: Эндометриозды болжау мен диагностикалау үшін цитокиндерді перитонеалды сұйықтықта анықтаудың қан сарысуындағы цитокиндерге қарағанда ақпараттылығы жоғары екені анықталды. Алайда перитонеалды сұйықтықты алудың инвазивті жолмен жүзеге асырылатынын ескере отырып бұл көрсеткіш негізінде қан сарысуы арқылы анықталып келеді. Қан сарысуы цитокиндерінің ішінде эндометриозды болжау мен диагностикалауда ИЛ-6 и ФНО- α жоғары ақпараттылық деңгейі байқалды.

Қорытынды: Бедеулігі бар әйелдерде эндометриозды болжау мен диагностикалаудағы қан сарысуында определение ИЛ-6 мен ФНО- α қолдауға болады.

Маңызды сөздер: эндометриоз – бедеулік – болжау – диагностика - цитокиндер.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ И ДИАГНОСТИКА ЭНДОМЕТРИОЗА У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ НА ОСНОВАНИИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Коваль Г., Иванчук М.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

Цель исследования: определение информативности цитокинов для прогнозирования и диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием.

Методы: обследовано 65 женщин с бесплодием ассоциированным с эндометриозом основной группы и 40 женщин с бесплодием трубного генеза контрольной группы, в которых предварительно были определены уровни цитокинов (ИЛ-2, ИНФ- γ , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-10, ТФР- β , ИЛ-17, ИЛ-1 β , ИЛ-12, ИЛ-18) в сыворотке крови и перитонеальной жидкости. Информативность иммунологических маркеров для прогнозирования и диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием вычисляли с использованием математических моделей информативности по Кульбаку, Вальдивского последовательного анализа, кластерного анализа и метода линейного отделения выпуклых оболочек. Для прогнозирования отбирали показатели, которые по критерию Уилкоксона-Манна-Уитни показали достоверные различия ($p < 0,05$) между группами больных с наличием и отсутствием эндометриоза.

Результаты: определение цитокинов перитонеальной жидкости показало более высокую диагностическую и прогностическую

информативность по сравнению с информативностью цитокинов сыворотки крови, но учитывая инвазивность забора перитонеальной жидкости, более высокое практическое использование имеют цитокины сыворотки крови. Среди цитокинов сыворотки крови, наивысшую информативность для прогнозирования и диагностики эндометриоза продемонстрировали ИЛ-6 и ФНО-α.

Выводы: определение ИЛ-6 и ФНО-α в сыворотке крови можно использовать в качестве иммунологических маркеров для диагностики и прогнозирования эндометриоза у женщин с бесплодием.

Ключевые слова: эндометриоз – бесплодие – прогнозирование – диагностика - цитокины.

Введение

Эндометриоз (эндометриозидная болезнь) – это дисгормональное, иммунозависимое заболевание с генетической предрасположенностью, характеризующееся доброкачественным разрастанием ткани по морфологическим и функциональным признакам похожей на эндометрий вне полости матки [1,2].

Эндометриоз относится к числу наиболее распространенных гинекологических заболеваний и поражает по разным данным до 15% женщин репродуктивного возраста [3].

Важнейшую роль данное заболевание играет в развитии бесплодия - генитальный эндометриоз ассоциирован с бесплодием в 25-50% пациентов, а перитонеальная форма сопровождается бесплодием в 60-80% случаев [4,5]

В большинстве случаев, диагноз эндометриоза, как причины бесплодия, устанавливается через достаточно длительный промежуток времени. Это связано, в первую очередь, с неспецифичностью жалоб и недостаточной диагностической способностью неинвазивных инструментальных или лабораторных методов диагностики этого заболевания. В частности, широко используемая ультразвуковая диагностика ограничивается визуализацией лишь некоторых форм эндометриоза (эндометриома, аденомиоз) и не обладает возможностью диагностировать перитонеальные формы заболевания, которые представляют большую часть всех выявляемых случаев [6]. То же можно сказать и о компьютерной или магнитно-резонансной томографии в случае с возможностью диагностировать эндометриоз. В этой категории диагностических методов альтернативными можно считать современные подходы к диагностике эндометриоза с помощью магнитно-резонансной визуализации с контрастным усилением [7-9]. «Золотым стандартом» диагностики (и во многих случаях, лечения) эндометриоза является лапароскопическая визуализация [10-13], с последующим гистологическим подтверждением биопсии [14,15]. В свою очередь, диагностико-лечебная лапароскопия присутствует далеко не во всех лечебных учреждениях особенно амбулаторного типа, куда обращаются пациенты на первичном этапе обследования. Преимущественно по этой причине неизвестна и точная частота эндометриоза в целом, так как к лапароскопической операции прибегают далеко не все пациентки, а лишь некоторая часть, с жалобами на бесплодие, выраженные поясничные боли, дизурию, диспареунию [16]. В частности, эндометриоз обнаруживается в 25 - 47% девочек подросткового возраста, которых оперировали по поводу тазовой боли [17]. Вышеизложенные факторы способствуют пониманию необходимости поиска неинвазивных решений прогнозирования риска и диагностики эндометриоза.

Среди известных неинвазивных маркеров эндометриоза можно выделить наиболее используемые:

- Опухольассоциированные антигены (онкомаркеры) такие как CA125, CA-19-9, SICAM-1, гликоделин;
- Антиэндометриальные аутоантитела и аутоантитела к маркерам оксидативного стресса;

- Генетические маркеры - EGR-1 gene (Early growth response), плацентарный протеин 14 (PP14);

- Тканевые маркеры: ароматаза P450, цитокератины, гормоны и рецепторы к ним (hormone receptors ER-α and ER-β, PRA and PR-B Beta-3).

- Цитокины [18-21].

Все перечисленные маркеры являются неспецифическими или низкоспецифическими, кроме тканевых маркеров, и больше отображают воспалительный процесс, вызванный эндометриозом, нежели сам эндометриоз.

На наш взгляд, среди иммунологических маркеров, для диагностики эндометриоза важное значение имеет определение цитокинов, так как цитокины являются главными медиаторами межклеточного взаимодействия и имеют склонность к изменению в динамике при наличии воспалительного процесса любого характера. Это качество цитокинов может быть использовано для прогнозирования тяжести течения эндометриоза и эффективности его лечения, особенно, учитывая факт невозможности проведения повторной лапароскопии для оценки результатов лечения [22]. Кроме того, показана роль дисбаланса цитокинов и факторов роста, наряду с гормональными нарушениями в изменении физиологического «окна имплантации» и бесплодия [21-24].

Цель работы: определение информативности цитокинов для прогнозирования и диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием.

Материал и методы исследования

Исследование проводилось с 2009 по 2014 год на базе Центра лечения бесплодия (г. Черновцы, Украина).

Дизайн исследования: проспективное рандомизированное сравнительное исследование. Основную группу составили 65 женщин с эндометриозом и бесплодием (в возрасте от 18 до 43 лет, средний возраст составил 31,01 года), контрольную группу составили 40 женщин с бесплодием трубного генеза (в возрасте от 19 до 44 лет, средний возраст составил 29,49 лет). Критериями включения в основную группу были: репродуктивный возраст, наличие верифицированного эндометриоза, бесплодие сроком не менее 2 лет, проходимость маточных труб. Критериями включения в контрольную группу были: репродуктивный возраст, верифицированное трубное бесплодие вследствие давно перенесенного воспалительного процесса. Критериями исключения для обеих групп были: сопутствующие заболевания репродуктивной сферы в стадии обострения, эндокринные, иммунные заболевания, инфекционные заболевания, выявление патологических возбудителей при микробиологических и вирусологических обследованиях. Верификация диагноза эндометриоза и трубного бесплодия проводилась согласно стандартов с помощью лечебно-диагностической лапароскопии и хромогидротубации. В частности, диагноз эндометриоза устанавливался на основе характерной визуальной картины и подтверждался результатами гистологического исследования. Окончательный диагноз бесплодия трубного

генеза устанавливался на основании двусторонней трубной непроходимости. Все операции проводились в интервале 14-20 дней менструального цикла. Перитонеальная жидкость отбиралась во время проведения лапароскопического вмешательства, а кровь - перед этой процедурой.

Протокол исследования соответствовал требованиям к биомедицинским исследованиям и утверждался Комитетом по биоэтике Буковинского государственного медицинского университета, а также Локальным этическим комитетом Центра лечения бесплодия, в котором проходили лечение пациентки. Все исследования проводились с информированного согласия пациенток и в условиях конфиденциальности.

В сыворотке крови и перитонеальной жидкости предварительно определяли уровни следующих цитокинов: интерлекин 2 (ИЛ-2), фактор некроза опухолей альфа (ФНО- α), интерферон гамма (ИНФ- γ), интерлейкин 6 (ИЛ-6), интерлейкин 10 (ИЛ-10), трансформирующий фактор роста бэта (ТФР- β), интерлейкин 17 (ИЛ-17), интерлейкин 1 бэта (ИЛ-1 β), интерлейкин 12 (ИЛ-12), интерлейкин 18 (ИЛ-18). Определение уровней цитокинов в сыворотке крови и перитонеальной жидкости проводили твердофазным иммуоферментным методом по стандартной методике на наборах фирмы «Вектор Бест» производства Россия на приборе «STAT FAX 303 PLUS». Полученные результаты исследования анализировались с помощью компьютерных пакетов «STATISTICA» StatSoft Inc. и Microsoft Excel на персональном компьютере с использованием параметрических и непараметрических методов вычисления.

Математические методы определения информативности показателей для прогнозирования и диагностики

1. Определение информативности по Кульбаку и Вальдовский последовательный анализ. Для построения

прогностических таблиц использовали информационную меру Кульбака [25] и последовательный метод Вальда [26]. Этот подход заключается в последовательном накоплении информации до момента достижения прогностического порога. Больные контрольной группы распределяются в группы с эндометриозом, если их сумма баллов по прогностическим таблицам больше необходимого максимума, или в группу без эндометриоза, если их сумма баллов меньше необходимого минимума.

2. Кластерный анализ. Под кластерным анализом понимают задачу разбиения исходных данных на группы таким образом, чтобы элементы, входящие в эти группы были максимально схожи по каким-то заранее заданным критериям [27]. Кластерный анализ проводили методом k-средних [28] с вычислением Евклидовой метрики. Больных контрольной группы распределяли к тому кластеру, расстояние к среднему которого является наименьшим.

3. Метод линейного разделения выпуклых оболочек (ЛРВО) [29]. Суть метода заключается в следующем. Пациенты обучающей выборки представляются как точки в пространстве, где - количество информативных признаков, которые рассматриваются. Ищется такая гиперплоскость, которая разделяет пространство на два полупространства - больные с наличием эндометриоза и с его отсутствием. Больные контрольной группы распределяются в класс, соответствующего полупространства, в котором они расположены.

Результаты

Об предыдущих исследованиях были показаны уровни цитокинов в сыворотке крови и перитонеальной жидкости у исследуемых пациенток [30]. Для понимания результатов данного исследования приведем данные повторно в таблице 1.

Таблица 1

Уровни цитокинов в сыворотке крови и перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом ассоциированным с бесплодием и контрольной группе

Название цитокина	Уровни в сыворотке крови (пг/мл)			Уровни в перитонеальной жидкости (пг/мл)		
	Опыт M \pm m	Контроль M \pm m	p	Опыт M \pm m	Контроль M \pm m	p
ИЛ-2	6,93 \pm 1,66	19,56 \pm 4,7	p<0,01	112,51 \pm 2,54	3,03 \pm 3,07	p<0,01
ИНФ- γ	24,98 \pm 0,72	26,46 \pm 1,15	p>0,05	41,67 \pm 1,38	20,51 \pm 0,50	p<0,01
ФНО- α	9,5 \pm 1,18	5,21 \pm 0,58	p<0,01	17,03 \pm 0,52	3,17 \pm 0,40	p<0,01
ИЛ-6	10,26 \pm 0,61	6,51 \pm 0,51	p<0,01	99,21 \pm 5,32	4,71 \pm 0,34	p<0,01
ИЛ-10	172,05 \pm 9,67	134,53 \pm 4,73	p<0,01	194,52 \pm 6,65	90,11 \pm 5,08	p<0,01
ТФР- β	81,54 \pm 1,4	82,22 \pm 2,19	p>0,05	62,11 \pm 1,29	51,09 \pm 1,63	p<0,01
ИЛ-17	77,08 \pm 3,81	74,14 \pm 4,52	p>0,05	38,35 \pm 2,57	5,06 \pm 0,34	p<0,01
ИЛ-1 β	29,2 \pm 2,01	28 \pm 2,78	p>0,05	20,39 \pm 0,78	18,41 \pm 0,53	p>0,05
ИЛ-12	23,4 \pm 0,57	26,24 \pm 1	p<0,01	31,00 \pm 0,78	15,74 \pm 0,26	p<0,01
ИЛ-18	76,64 \pm 1,66	63,36 \pm 2,09	p<0,01	93,00 \pm 2,88	30,95 \pm 1,33	p<0,01

Примечания: опыт – женщины с эндометриозом, контроль – женщины без эндометриоза, p<0,01 – есть достоверные отличия, p>0,05 – нет достоверных отличий.

1. Прогнозирование наличия эндометриоза по значениям цитокинов в сыворотке крови с использованием информативной меры Кульбака

Для прогнозирования отбирали только те показатели, которые по критерию Уилкоксона-Манна-Уитни показали

достоверные различия ($p < 0,05$) между группами больных [31] с наличием и отсутствием эндометриоза (табл.1). Информативность показателей и прогностические баллы приведены в таблице.2.

Таблица 2 Прогностическая таблица для определения наличия эндометриоза за уровнями цитокинов сыворотки крови

ИЛ-6		ФНО- α		ИЛ-10		ИЛ-2		ИЛ-18		ИЛ-12	
Информативность											
3,387		2,253		1,563		1,536		1,534		1,150	
Диапазон пг/мл	Баллы	Диапазон пг/мл	Баллы	Диапазон пг/мл	Баллы	Диапазон пг/мл	Баллы	Диапазон пг/мл	Баллы	Диапазон пг/мл	Баллы
≤ 5	-8	≤ 4	-4	≤ 90	12	≤ 2	12	≤ 50	-12	≤ 20	5
5,1-10	-2	4,1-8	-3	90,1-220	-2	2,1-4	2	50,1-70	-3	20,1-30	-1
$> 10,1$	12	8,1-12	3	> 220	12	4,1-6	-1	> 70	3	30,1-40	-6
		> 12	12			6,1-20	-2			> 40	-12
						> 20	-7				

Для прогнозирования наличия эндометриоза у пациентки добавляю баллы по таблице, начиная от наиболее информативного признака к наименее информативному признаку. Если при добавлении баллов достигается необходимый максимум 12, прогнозируют наличие

эндометриоза ($p < 0,05$). Если достигается необходимый минимум -12, прогнозируют отсутствие эндометриоза ($p < 0,05$). При сумме баллов в диапазоне от -11 до +11 результат прогнозирования считают неопределенным. Результаты прогнозирования приведены в таблице 3.

Таблица 3 Результаты прогнозирования наличия эндометриоза по значениям цитокинов в сыворотке крови с использованием информативной меры Кульбака

Группы пациенток	Правильные	Ошибочные	Неопределенные
Количество (n)			
Пациентки с наличием эндометриоза	36	5	24
Пациентки без эндометриоза	29	0	11

Примеры использования метода.

1. Пациентка с показателями:

ИЛ-6 = 7,9 пг/мл; ФНО- α = 10,4 пг/мл; ИЛ-10 = 220,2 пг/мл; ИЛ-2 = 2,6 пг/мл; ИЛ-18 = 61,1 пг/мл; ИЛ-12 = 18,3 пг/мл.

Вычисляем баллы по таблице 2:

ИЛ-6 = -2;

ИЛ-6 + ФНО- α = -2 + 3 = 1;

ИЛ-6 + ФНО- α + ИЛ-10 = -2 + 3 + 12 = 13 \geq 12.

На этом шаге достигнут необходимый максимум, поэтому прогнозируем у пациентки наличие эндометриоза.

2. Пациентка с показателями:

ИЛ-6 = 3,1 пг/мл; ФНО- α = 4 пг/мл; ИЛ-10 = 139,1 пг/мл; ИЛ-2 = 5,9 пг/мл; ИЛ-18 = 68,8 пг/мл; ИЛ-12 = 19,7 пг/мл.

Вычисляем баллы по таблице 2:

ИЛ-6 = -8;

ИЛ-6 + ФНО- α = -8 + 3 = -5 \leq -12.

Достигнут необходимый минимум, поэтому прогнозируем отсутствие эндометриоза у пациентки.

2. Прогнозирование наличия эндометриоза по значениям цитокинов в перитонеальной жидкости с использованием кластерного анализа

Был проведен кластерный анализ с использованием значений цитокинов ИЛ-2, ИФН γ , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-10, ТФР- β , ИЛ-17, ИЛ-1 β , ИЛ-12, ИЛ-18. В результате кластерного анализа все (100%) больные с эндометриозом и больные без эндометриоза были правильно распределены на два кластера. Кластерные средние приведены в таблице 4.

Таблица 4 Кластерные средние для прогнозирования наличия эндометриоза на основании уровней цитокинов перитонеальной жидкости

Эндометриоз	ИЛ-2 пг/мл	ИФН γ пг/мл	ФНО- α пг/мл	ИЛ-6 пг/мл	ИЛ-10 пг/мл	ТФР- β пг/мл	ИЛ-17 пг/мл	ИЛ-1 β пг/мл	ИЛ-12 пг/мл	ИЛ-18 пг/мл
Есть	112,511	41,671	17,026	99,214	194,519	62,106	5,065	20,389	31,003	93,005
Нет	3,033	20,513	3,167	4,710	90,110	51,093	38,350	18,410	15,743	30,947

Используя данные табл. 4, пациентку относим к тому кластеру, в котором меньше евклидово расстояние к среднему.

Примеры использования метода.

1. Пациентка с показателями:

ИЛ-2 =133,8 пг/мл, ИНФ-γ=52,8 пг/мл, ФНО-α=18,3 пг/мл, ИЛ-6=53,6 пг/мл, ИЛ-10=149 пг/мл, ТФР-β=67,3 пг/мл, ИЛ-17=3 пг/мл, ИЛ-1β=13,4 пг/мл, ИЛ-12=28,6 пг/мл, ИЛ-18 =112,7 пг/мл.

Согласно табл. 4., вычисляем расстояние показателей к кластерным средним.

Расстояние к кластеру показателей пациенток с наличием эндометриоза:

$d1 = ((112,511 - 133,8)^2 + (41,671 - 52,8)^2 + (17,026 - 18,3)^2 + (99,214 - 53,6)^2 + (194,519 - 149)^2 + (62,106 - 67,3)^2 + (5,065 - 3)^2 + (20,389 - 13,4)^2 + (31,003 - 28,6)^2 + (93,005 - 112,7)^2) / 2 = 72,146$.

Расстояние к кластеру показателей пациенток с отсутствием эндометриоза:

$d2 = ((3,033 - 133,8)^2 + (20,513 - 52,8)^2 + (3,167 - 18,3)^2 + (4,710 - 53,6)^2 + (90,110 - 149)^2 + (51,093 - 67,3)^2 + (38,350 - 3)^2 + (18,410 - 13,4)^2 + (15,743 - 28,6)^2 + (30,947 - 112,7)^2) / 2 = 180,599$. $d1 < d2$. Таким образом, прогнозируем наличие эндометриоза у пациентки.

2. Пациентка с показателями:

ИЛ-2 =4,9 пг/мл, ИНФ-γ=24,3 пг/мл, ФНО-α =0,8 пг/мл, ИЛ-6=6,3 пг/мл, ИЛ10 =59 пг/мл, ТФР-β =62,8 пг/мл, ИЛ-17 =23,1 пг/мл, ИЛ-1β=22,7 пг/мл, ИЛ-12 =14,1 пг/мл, ИЛ-

18=32,5 пг/мл.

Согласно табл. 4, вычисляем расстояние показателей к кластерным средним.

Расстояние к кластеру показателей пациенток с наличием эндометриоза:

$d1 = ((112,511 - 4,9)^2 + (41,671 - 24,3)^2 + (17,026 - 0,8)^2 + (99,214 - 6,3)^2 + (194,519 - 59)^2 + (62,106 - 62,8)^2 + (5,065 - 23,1)^2 + (20,389 - 22,7)^2 + (31,003 - 14,1)^2 + (93,005 - 32,5)^2) / 2 = 208,637$.

Расстояние к кластеру показателей пациенток с отсутствием эндометриоза:

$d2 = ((3,033 - 4,9)^2 + (20,513 - 24,3)^2 + (3,167 - 0,8)^2 + (4,710 - 6,3)^2 + (90,110 - 59)^2 + (51,093 - 62,8)^2 + (38,350 - 23,1)^2 + (18,410 - 22,7)^2 + (15,743 - 14,1)^2 + (30,947 - 32,5)^2) / 2 = 37,576$. $d1 < d2$.

Таким образом, прогнозируем отсутствие эндометриоза у пациентки.

3. Прогнозирование наличия эндометриоза с использованием показателей цитокинов в перитонеальной жидкости методом линейного разделения выпуклых оболочек

Для прогнозирования использовали показатели цитокинов ИЛ-2, ИНФ-γ, ФНО-α, значение которых в перитонеальной жидкости больных с эндометриозом и контрольной группы, согласно критерию Уилкоксона-Манна-Уитни, вероятно отличалось ($p < 0,001$) (табл.1). Распределение групп опыта и контроля в трехмерном пространстве показано на рис. 1.

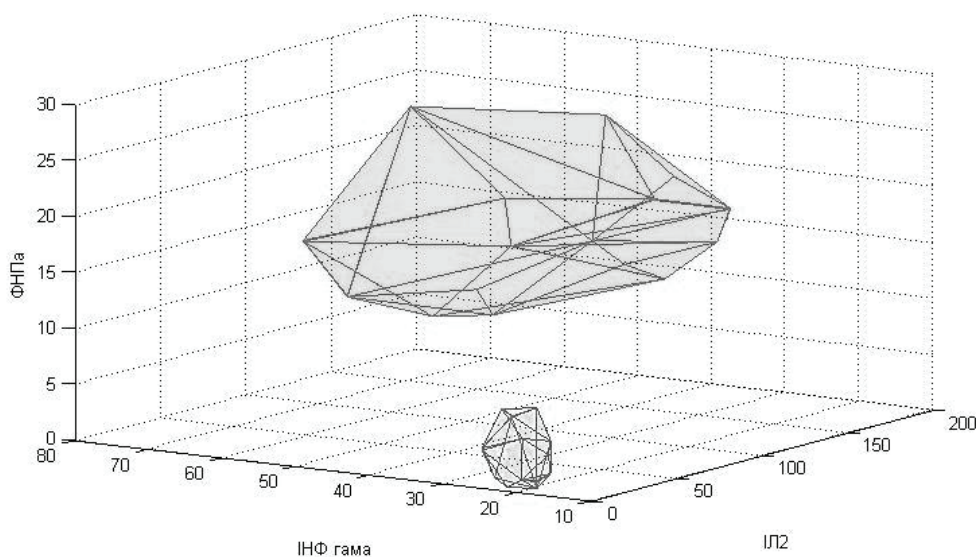


Рисунок 1. Разделение цитокинов в группе с эндометриозом и в контрольной группе

Как видно из рисунка 1, две группы данных не пересекаются, что делает возможным разделение трехмерного пространства на два полупространства так, чтобы больные и здоровые попали в разные полупространства.

Будем прогнозировать наличие эндометриоза, если:

$(1,56 \times \text{уровень ИЛ-2}) - (1536,42 \times \text{уровень ИНФ-}\gamma) - (15,11 \times \text{уровень ФНО-}\alpha) + 43173,4 < 0$;

и будем прогнозировать отсутствие эндометриоза, если:

$(1,56 \times \text{уровень ИЛ-2}) - (1536,42 \times \text{уровень ИНФ-}\gamma) -$

$(15,11 \times \text{уровень ФНО-}\alpha) + 43173,4 > 0$.

Примеры использования метода

1. Пациентка с показателями:

ИЛ-2 =133,8 пг/мл, ИНФ-γ =52,8 пг/мл, ФНО-α =18,3 пг/мл.

Определяем, к какому полупространству принадлежит точка (133,8;52,8;18,3)

$1,56 \times 133,8 - 1536,42 \times 52,8 - 15,11 \times 18,3 + 43173,4 = -38017,4 < 0$.

Таким образом, прогнозируем наличие эндометриоза у пациентки.

2. Пациентка с показателями:
ИЛ-2 =4,9 пг/мл, ИНФ- γ =24,3 пг/мл, ФНО- α =0,8 пг/мл.

Определяем, к какому полупространству принадлежит точка (4,9;24,3;0,8) $1,56 \times 4,9 - 1536,42 \times 24,3 - 15,11 \times 0,8 + 43173,4 = 5833,952 > 0$.

Таким образом, прогнозируем отсутствие эндометриоза у пациентки.

Обсуждение

Как было сказано выше, важной задачей для практического использования, является выявление маркеров неинвазивной диагностики эндометриоза, которыми могут быть, по нашему мнению, цитокины сыворотки крови ввиду малоинвазивности забора исследуемого материала. При применении вышеописанных математических методов, диагностическую значимость можно получить лишь при вычислении информативности с использованием информативной меры Кульбака. В то же время два других метода (кластерный анализ и метод ЛРВО) не показали информативных значений для показателей цитокинов сыворотки крови, в связи с чем данные анализа в данной статье не приводились. Несмотря на достоверные различия, согласно критерия Уилкоксона-Манна-Уитни ($p < 0,01$) для шести из десяти исследуемых цитокинов, только два из них – ИЛ-6 и ФНО- α обладают высокой информативностью (следует отметить, что корреляционных связей между ИЛ-6 и ФНО- α в сыворотке крови и перитонеальной жидкости не было выявлено). Таким образом, данные цитокины можно использовать в качестве маркеров прогнозирования эндометриоза и контроля качества лечения в динамике. В то же время, при анализе данных показателей в перитонеальной жидкости, показано не только достоверные различия у девяти из десяти исследуемых цитокинов, но и высокие прогностические и диагностические значения. В частности, наблюдалось 100% правильное распределение всех пациенток по кластерам «больные» - «здоровые» соответственно. Так же, 100% правильным было распределение всех исследуемых пациенток к группам «больные» - «здоровые» при анализе показателей ИЛ-2, ФНО- α и ИНФ- γ в трехмерном пространстве при использовании метода ЛРВО. Следует сказать, что другие варианты сочетания трех цитокинов, необходимых для проведения этого метода анализа 100% правильное распределение не показали, поэтому мы данные их не демонстрируем. Но, тем не менее, несмотря на

высокую диагностическую значимость, данные цитокинов перитонеальной жидкости несут скорее теоретическое, нежели практическое значение ввиду инвазивности забора исследуемого материала и тем самым ограничения возможности применения метода.

Данные, полученные в нашем исследовании, в целом согласуются с общей концепцией, построенной на результатах, полученных другими исследователями [32,33,34,35], кроме показателей ИЛ-1 β . Но, в известных исследованиях уровень ИЛ-1 β определяли в других биологических жидкостях или же показывали повышение концентрации не самого цитокина, а его растворимого рецептора [36,37]. Методы анализа прогностической ценности цитокинов, используемые в данной работе, проводились впервые. Кластерный анализ и метод ЛРВО не давали прогностических ошибок в случае определения цитокинов перитонеальной жидкости, то есть при высокосignификантных различиях между показателями исследуемой группы и контроля. В то же время, прогностическая значимость информативной меры Кульбака была значительно ниже, но позволяла прогнозировать наличие эндометриоза при низкосignификантных различиях между исследуемыми показателями и контролем.

Данные исследования требуют дальнейшего продолжения с целью определения описанных показателей в других биологических жидкостях (вагинальный секрет, шеечная слизь) и другими методами.

Выводы

Определение уровней ИЛ-6 и ФНО- α в сыворотке крови можно применять в качестве иммунологических маркеров прогнозирования и диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием.

Благодарность

Приносим искреннюю благодарность ректору Буковинского государственного медицинского университета, профессору Т.М. Бойчуку за оказанную возможность выполнять данную работу, профессору А.М. Юзьку и директору Центра лечения бесплодия, доценту Т.А. Юзьку за помощь в подборе и исследовании пациентов на базе Центра, а также заведующему кафедрой клинической иммунологии, аллергологии с курсом медицинской генетики Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца А.И. Курченко за помощь в проведении лабораторных исследований.

Литература

1. Baskakov V.P., Cvelev Ju.V., Kira E.F. Endometrioid disease, SPb, 2002, 452 p.
2. Marchenko L.A., Il'ina L.M. A modern look at some aspects of the pathogenesis of endometriosis (review), *Problemy reprodukci*, 2011, No.1, pp. 20-25.
3. Adamjan L.V., Kulakov V.I., Andreeva E.N. Endometriosis. Guide for physicians, M.: *Medicina*, 2006, 170 p.
4. Savickij G.A., S.M. Gorbushin. Peritoneal endometriosis and infertility (clinical and morphological studies), *SPb.: JeLBISp*, 2002, 170 p.
5. Giudice L.C., Kao L.C. Endometriosis, *Lancet*, 2004, No.364, pp.1789–1799.
6. Ozerskaja A. Sonography in Gynecology, *Medika, Moskva*, 2005, pp.112 – 113.
7. Shimanovskij N.L. Application of MRI with contrast enhancement in the diagnosis of endometriosis, *Mezhdunarodnyj medicinskij zhurnal*, 2005, T. 11, No. 3, pp. 73-76.
8. Wu T.T., Coakley F.V., Qayyum A. et al. Magnetic resonance imaging of ovarian cancer arising in endometriomas, *J. Comp. Assist. Tomogr*, 2004, No. 28, pp.836–838.
9. Balleyguier C., Roupert M., Nguyen T. et al. Ureteral endometriosis: the role of magnetic resonance imaging, *J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc*, 2004, No.4, pp. 530–536.
10. Catherine B., Wykes T., Justin Clark et al. Review: Accuracy of laparoscopy in the diagnosis of endometriosis: a systematic

- quantitative review, *BJOG: An Intern. Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 2004, Vol. 111, No. 11, pp. 1204–1212.
11. Cochrane Methods Working Group on Systematic Reviews of Screening and Diagnostic Tests. Recommended Methods. 1996. Available: <http://www.cochrane.org/cochrane/sadtdoc1.htm> (Accessed 3 September 2001).
 12. Zaporozhan V.M., Cegel's'kij M.R. Gynecologic Pathology: Atlas: Textbook, *Odesa: Odes. derzh. med. un-t*, 2002, 30 p.
 13. Howard F.M., Minawi E.I., Sanchez A.M. Conscious pain mapping by laparoscopy in women with chronic pelvic pain, *Obstet Gynecol*, 2000, No.96, pp. 934– 939.
 14. Walter A.J., Hentz J.G., Magtibay P.M. et al. Endometriosis: correlation between histologic and visual findings at laparoscopy, *Am J Obstet Gynecol*, 2001, No.184, pp.1407–1411.
 15. Ratcliffe N., Wright J.T., Importance of histological diagnosis in patients with pelvic pain and laparoscopic evidence of endometriosis, *Gynaecol Endosc*, 2000, No.9, pp. 301– 304.
 16. Kontoravdis A., Hassan E., Hassiakos D. et al. Laparoscopic evaluation and management of chronic pelvic pain during adolescence, *Clin. Exp. Obstet. Gynecol*, 1999, No. 26, pp. 76 - 77.
 17. Mcleod B.S., Retzloff M.G.. Epidimiologi of endometriosis: an assessment of risk factors, *Clin. Obstet. Gynecol*, 2010, No. 53, pp. 39 – 396.
 18. Burlev V.A., Il'jasova N.A., Dubinskaja E.D. et. al. Diagnostic value of markers of angiogenesis in biological fluids of patients with adenomyosis, *Problemy reprodukcii*, 2009, No1, pp.86-88.
 19. Meola J., Júlio César Rosa e Silva, Blassioli D. et al. Differentially expressed genes in eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis, *Fertility and Sterility*, 2010, No. 93 (6), pp.1750-1773.
 20. Ding X., Wang L., Ren Y. Detection of mitochondrial biomarkers in eutopic endometria of endometriosis using surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Fertility and Sterility*, 2010, No. 94(7), pp. 2528-2530.
 21. Kyama K.M., Overbergh L., Attila M. et. al. Endometrial and peritoneal expression of aromatase, cytokines, and adhesion factors in women with endometriosis, *Fertility and Sterility*, 2008, No. 89(2), pp.301–310.
 22. Ilie I., Ilie R. Cytokines and Endometriosis - the Role of Immunological Alterations, *Biotechnology, molecular biology and nanomedicine*, 2013, Vol.1, No.2, pp.8-18.
 23. Khan K.N., Kitajima M., Hiraki K. et al. Immunopathogenesis of pelvic endometriosis: role of hepatocyte growth factor, macrophages and ovarian steroids, *Am J Reprod Immunol*. 2008, Vol.60, pp.383-404.
 24. Barcz E., Milewski L., Dziunycz P. et al. Peritoneal cytokines and adhesion formation in endometriosis: an inverse association with vascular endothelial growth factor concentration, *Fertility and sterility*, 2012, No. 97, pp.1380-1386.
 25. Kul'bak S. Information theory and statistics, *M.: Mir*, 1967, 408 p.
 26. Gubler E. V., Genkin A. A. Application of nonparametric statistics in biomedical research, *L.*, 1973, 144 p.
 27. Mandel' I.D. Cluster analysis, *M.: Finansy i statistika*, 1988, 176 p.
 28. Hoppner Frank et al. Fuzzy Cluster Analysis. Methods for classification, data analysis and image recognition, *John Wiley & Sons, LTD*, 2000, 289 p.
 29. Ivanchuk M.A., Malyk I.V. Separation of convex hulls as a way of modeling forecasting of complications in patients, *Problemy upravlenija i informatiki*, 2015, No.2, pp.89-95.
 30. Koval' G.D., Pashkovskaja N.V., Olenovich O.A. et. al. Features of systemic and local production of proinflammatory cytokines in women with endometriosis are infertile asotsirovannym, *The collection of materials of the International scientific conference "Modern research of biomedical sciences: improving the diagnosis, the development of prevention and treatment of diseases"*, *Russia, Kirov*, 26-28 June, 2013, pp. 67-73.
 31. Lakin G.F. Biometrics: A manual for biologists spices. universities, 4th ed., rev. and additional, *M.: Vyssh. shkola*, 1990, 352 p.
 32. Harada T., Yoshioka H., Yoshida S. et al. Increased interleukin-6 levels in peritoneal fluid of infertile patients with active endometriosis, *American journal of obstetrics and gynecology*, 1997, Vol. 176, pp.593-597.
 33. Iwabe T., Harada T., Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis-associated infert-ility, *Gynec. Obstet. Invest*, 2002, No. 53, pp. 19-25.
 34. Antsiferova Y.S., Sotnikova N.Y., Posiseeva L.V. et al. Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis, *Fertility and sterility*, 2005, No. 84, pp.1705-1711.
 35. Kalu E., Sumar N., Giannopoulos T. et al. Cytokine profiles in serum and peritoneal fluid from infertile women with and without endometriosis, *The journal of obstetrics and gynaecology research*, 2007, No.33, pp. 490-495.
 36. Somigliana E., Viganò P., Candiani M. et al. Use of serum-soluble intercellular adhesion molecule-1 as a new marker of endometriosis, *Fertility and Sterility*, 2002, No. 77(5), pp.1028-1031.
 37. Michaud N., Al-Akoum M., Gagnon G. et al. Decreased concentrations of soluble interleukin-1 receptor accessory protein levels in the peritoneal fluid of women with endometriosis, *Journal of reproductive immunology*, 2011, No. 92, pp. 68-73.