

Масс-спектрометрия — новый подход в диагностике аденомиоза и рака тела матки

А.В. Сорокина¹, В.Е. Радзинский¹, Е.А. Мустафина², В.В. Барinov², Л.И. Бокина²,
Г.П. Арапиди³, Р.Х. Зиганшин³

¹Кафедра акушерства и гинекологии медицинского факультета РУДН; ²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН;

³Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва

Контакты: Екатерина Александровна Мустафина afl_nlo154@mail.ru

Проведено фракционирование сывороток крови практически здоровых женщин ($n=60$, средний возраст 40 лет, группа контроля), пациенток с подтвержденным диагнозом аденомиоз ($n=40$, средний возраст 41 год) и больных раком тела матки — РТМ ($n=42$, средний возраст 58 лет) на магнитных микрочастицах со слабой катионообменной поверхностью с последующим исследованием полученных фракций методом времяпролетной масс-спектрометрии (МС) с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией. Анализ МС-данных с использованием классификационных алгоритмов (генетический алгоритм и обучаемая нейронная сеть) позволил построить математические модели, способные с высокой специфичностью и чувствительностью различать МС-профили перечисленных групп образцов. Наилучшими значениями специфичности и чувствительности классификационных моделей аденомиоз—контроль и РТМ—контроль были 86,2 и 93,8 и 90,5 и 90,5 % соответственно. С помощью анализа статистических диаграмм площадей этих пиков, выполненного между различными группами образцов, удалось выявить 3 пика, характерных для МС-профилей группы образцов аденомиоза, и 3 пика, характерных для группы образцов РТМ.

Ключевые слова: аденомиоз, рак тела матки, масс-спектрометрия с матрично-активированной десорбцией/ионизацией

Mass spectrometry is a new approach to diagnosing adenomyosis and cancer of the corpus uteri

A.V. Sorokina¹, V.E. Radzinsky¹, E.A. Mustafina², V.V. Barinov², L.I. Bokina², G.P. Arapidi³, R.Kh. Ziganshin³,

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Faculty, Russian Peoples' Friendship University;

²N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences;

³M.M. Shemyakin & Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow

Sera from 60 apparently healthy women (mean age 40 years; a control group), 40 patients with a verified diagnosis of adenomyosis (mean age 41 years) and 42 patients with uterine corpus cancer (UCC) (mean age 58 years) were fractionated on magnetic beads with weak cation exchange surface, followed by an examination of the obtained fractions by time-of-flight mass spectroscopy (MS) with matrix-activated laser desorption/ionization. MS data analysis using classification algorithms, such as a genetic algorithm and a learning neural network, made it possible to construct mathematical models that were able to differentiate MS profiles of the above sample groups with a high specificity and a high sensitivity. The best values of the specificity and sensitivity of the classification models adenomyosis-control and UCC-control were 86.2, 93.8, 90.5, and 90.5%, respectively. Analysis of the statistical diagrams of these peak areas between different sample groups could identify 3 MS profile peaks for adenomyosis and 3 peaks for UCC.

Key words: adenomyosis, cancer of the corpus uteri, mass spectroscopy with matrix-activated desorption/ionization

Введение

Считается, что малигнизация эндометриоза тела матки происходит редко. Тем не менее сочетание эндометриоза и злокачественных заболеваний женских половых органов отмечено в 17,8 % случаев [1].

При аденомиозе матки и аденокарциноме эндометрия сходство патогенетических механизмов проявляется симптомокомплексом, характеризующимся единством нарушения ановуляции и метаболизма жиров и углеводов [2, 3].

Дисгормональный характер аденомиоза, так же как и рака тела матки (РТМ), нередко выражается в виде однофазных циклов, эндокринного бесплодия, сочетания аденомиоза с гиперплазией эндометрия, миомой матки, пролиферативными процессами в молочных железах. Длительная ановуляция и гиперэстрогемия или же нормальная, но продолжительная эстрогенная стимуляция на фоне дефицита гормона желтого тела, столь типичные для эндометриоза, способствуют патологическому разрастанию стромы и железистого аппарата слизи-

стой оболочки матки и предрасполагают к возникновению предраковых заболеваний эндометрия и РТМ [4, 5].

Вероятность развития аденомиоза и РТМ у пациенток с пониженной генеративной функцией, ановуляторными кровотечениями, заболеваниями гениталий воспалительного характера, перенесших оперативные вмешательства и травмы (частые аборты, диагностические выскабливания), имеющих болезни печени, значительно выше, чем таковая у женщин, у которых указанные факторы отсутствуют (что соответствует I патогенетическому варианту рака эндометрия — РЭ по Я.В. Бохману) [6].

Особого внимания заслуживает способность как эндометриоза, так и аденокарциномы эндометрия к проникающему росту в прилежащий миометрий, вплоть до прорастания в соседние органы, а также распространение гематогенным и лимфогенным путем. При этом в очагах аденомиоза в отличие от рака сохраняются основные структурные и фенотипические компоненты эндометрия — зрелый железистый эпителий и строма [7–9].

По данным Е.А. Когана и соавт. [10], сочетание аденомиоза и аденокарциномы эндометрия неслучайно, что подтверждается как высокой долей случаев сочетаемости эстрогензависимого рака I типа и аденомиоза, так и самим фактом обнаружения гиперплазии с атипией эпителия в очагах аденомиоза у больных РТМ. Данный феномен, вероятно, можно объяснить выработкой цитокинов раковыми клетками, которые приводят к злокачественной трансформации аденомиоза [11].

Накоплены данные, свидетельствующие о повышенной частоте развития опухолевых процессов в молочных железах, эндометрии, толстой кишке и желудке у пациенток с эндометриоидной болезнью [3, 6].

Современные методы лечения онкологических заболеваний эффективны для пациенток на ранних стадиях заболевания [12–14]. На сегодняшний день отсутствуют методы ранней диагностики как РЭ, так и аденомиоза. Интерес в области ранней диагностики этих заболеваний представляет поиск потенциальных биомаркеров методами клинической протеомики.

Анализ крови — основной и наиболее распространенный в настоящее время метод медицинской диагностики. Сыворотка крови является сложным объектом для исследования, так как содержит большое количество высокомолекулярных белков, солей и липидов [15].

Для решения этой проблемы используют различные методы фракционирования, позволяющие выделять из такой сложной смеси белков и пептидов относительно узкие и воспроизводимые по со-

ставу фракции, которые в дальнейшем анализируют с помощью масс-спектрометрии (МС) [16, 17].

Посредством МС-профилирования групп образцов сыворотки крови больных и здоровых доноров можно находить воспроизводимые отличия между группами [18, 19]. Для этого полученные МС-данные анализируют с помощью специальных математических алгоритмов, строят классификационные модели и проводят оценку их эффективности. Эти классификационные модели могут быть использованы в дальнейшем для диагностики [20, 21].

В литературе описаны примеры успешного применения данного метода для выявления различий между сывороткой крови больных раком желудка, прямой кишки, предстательной железы, гепатоклеточной карциномой, раком яичников и сывороткой крови здоровых пациентов [16, 22, 23].

Материалы и методы

Клиническая характеристика больных

Нами были обследованы 40 больных с аденомиозом (средний возраст $41,2 \pm 1,2$ года), 42 пациентки с РТМ (средний возраст $58,6 \pm 0,9$ года) и 60 практически здоровых женщин — группа контроля (средний возраст $40,1 \pm 0,6$ года). Диагноз аденомиоза был установлен на основании клинической картины, данных гистероскопии и результатов гистологического исследования.

Распределение больных с аденомиозом по стадиям и данным анамнеза представлено в табл. 1.

Большинство (76 %) обследованных пациенток с аденомиозом находились в позднем репродуктивном и перименопаузальном периоде. Средний возраст наступления менархе составил $12,9 \pm 0,7$ года, менструации у большинства больных установились сразу, были регулярными, длительность менструального цикла до возникновения заболевания — 26–31 (в среднем $28,2 \pm 1,2$) день.

Особенностями репродуктивного анамнеза было большое число абортов — искусственных и самопроизвольных (60 %), бесплодие (15 %), внематочная беременность (5 %), а также малое (1–2) количество родов (87,5 %). Соматический анамнез у 33 (82,5 %) обследованных пациенток был отягощен наличием 2–3 детских инфекционных заболеваний, у 45 % имели место хронический гастрит, колит, холецистит, цистит. Из гинекологических заболеваний преобладали дисфункциональные маточные кровотечения (55 %), воспалительные заболевания матки и придатков (40 %).

Наиболее частыми были жалобы на обильные менструации (87,5 %), боли внизу живота до и во время менструации (60 %), перименструальные мажущие кровянистые выделения (52,5 %). К моменту обследования длительность клинического проявле-

Таблица 1. Клиническая характеристика больных в зависимости от степени инвазии и формы аденомиоза

Показатель	Степень аденомиоза			
	I	II	III	узловая форма
Возраст, годы	38,2 ± 1,8	41,2 ± 1,4	41,7 ± 1,3	43,2 ± 1,5
Возникновение менархе, годы	12,3 ± 0,2	13,3 ± 0,3	12,2 ± 0,4	13,1 ± 0,2
Продолжительность менструаций, сут	4,15 ± 0,3	5,38 ± 0,2	6,87 ± 0,1	6,18 ± 0,1
Число родов	1,95 ± 0,2	1,35 ± 0,1	1,65 ± 0,5	1,87 ± 0,1
Количество аборт	3,56 ± 0,7	3,98 ± 0,6	4,25 ± 0,8	4,34 ± 1,1
Число диагностических выскабливаний	1,12 ± 0,3	2,06 ± 0,6	2,35 ± 0,2	1,87 ± 0,5
Размеры матки, нед	4,35 ± 0,5	5,98 ± 0,3	6,54 ± 0,1	6,23 ± 0,1

ния заболевания составила в среднем $3,5 \pm 0,6$ года (от 5 мес до 10 лет). Ни одна из пациенток не получала гормональную терапию в течение 4 мес до начала проведения исследования. При ультразвуковом исследовании был установлен диагноз аденомиоз, что подтвердилось после выполнения гистероскопии и морфологического исследования.

РЭ был верифицирован на основании морфологического исследования операционного материала. Стадию РТМ определяли в соответствии с классификацией FIGO (1988) и по системе TNM (2003).

Распределение больных по стадиям было следующим: IA стадия — 7 (16,7%), IB — 24 (57,1%), IC — 3 (7,1%), ПА и ПВ — по 2 пациентки (4,8 и 4,8% соответственно), ПИА — 3 (7,1%), VI — 1 (2,4%). Таким образом, в 80,9% случаев выявлена I стадия заболевания.

Возраст всех больных РТМ варьировал от 41 года до 80 лет (в среднем $58,6 \pm 0,9$ года). При этом пациенток в возрасте 40–50 лет было 10 (23,8%), 51–60 — 13 (31%), 61–70 — 16 (38,1%), старше 71 года — 3 (7,1%).

При анализе анамнестических данных больных РТМ установлено, что средний возраст возникновения менархе у них составил $12,9 \pm 0,3$ года, число родов и абортов на пациентку было $1,4 \pm 0,2$ и $2,5 \pm 0,7$ соответственно.

В зависимости от состояния менструальной функции на момент диагностирования РТМ больные распределились следующим образом: 7 (16,7%) пациенток находились в периоде постменопаузы менее 5 лет, 9 (21,4%) — от 5 до 10, а 14 (33,3%) — более 10 лет. Особо следует отметить, что у каждой 3-й (28,6%) больной на момент диагностирования заболевания была сохранная менструальная функция (см. табл. 2).

При изучении морфологических характеристик РТМ у исследуемых пациенток выявлено, что сочетание последнего с аденомиозом наблюдалось практически в 1/3 случаев — у 14 (31%) больных.

У 38 (90,5%) пациенток диагностирована типичная гистологическая форма РТМ — эндометри-оидная аденокарцинома различной степени дифференцировки: высокодифференцированная — у 11 (26,2%), умеренно- и низкодифференцированная — у 17 (40,5%) и 10 (23,8%) больных соответственно. Отмечена достаточно высокая частота встречаемости редких форм РЭ — 9,5% случаев ($n=4$): у 2 (4,7%) пациенток верифицирована светлоклеточная аденокарцинома, у 1 (2,4%) — железисто-плоскоклеточный рак и еще у 1 (2,4%) — серозная папиллярная аденокарцинома.

При оценке глубины инвазии опухоли в миометрий обнаружено, что рост неоплазии в пределах эндометрия имел место у 7 (16,7%) больных, $< 0,5$ см — у 12 (28,6%). Более чем в половине (54,7%) наблюдений инвазия в миометрий превышала 0,5

Таблица 2. Распределение больных РТМ по возрасту и состоянию менструальной функции

Показатель	Число больных (%)
Возраст, годы:	
40–50	10 (23,8)
51–60	13 (31)
61–70	16 (38,1)
> 71	3 (7,1)
Состояние менструальной функции:	
сохранная	12 (28,6)
постменопауза, продолжительность, годы:	
• 1–5	7 (16,7)
• 5–10	9 (21,4)
• > 10	14 (33,3)

см, включая распространение до серозной оболочки тела матки (табл. 3).

Таблица 3. Распределение больных РТМ в зависимости от гистологической формы опухоли и глубины инвазии ее в миометрий

Показатель	Число больных (%)
Гистологическая форма опухоли:	
эндометриоидная аденокарцинома	
• высокодифференцированная	11 (26,2)
• умереннодифференцированная	17 (40,5)
• низкодифференцированная	10 (23,8)
редкие формы РТМ	4 (9,5)
Глубина инвазии опухоли в миометрий, см:	
в пределах эндометрия	7 (16,7)
< 0,5	12 (28,6)
0,5–1	9 (21,4)
> 1	14 (33,3)

Образцы сывороток крови

Сыворотки крови пациенток с аденомиозом были получены из ГКБ № 64 и 29, поликлиники № 1 НМХЦ им. Н.И. Пирогова; больных РТМ — из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. В качестве контроля использовали образцы сывороток крови практически здоровых женщин (группа контроля), полученные из клинико-диагностической лаборатории ООО НПФ «Литех» (Москва).

Протокол получения сыворотки крови

Кровь из вены (около 4 мл) собирали в пробирку без антикоагулянта, инкубировали ее при комнатной температуре в течение 1 ч, центрифугировали при 1900 G (3000 об/мин) в течение 15 мин (при комнатной температуре). Надосадочную жидкость (сыворотку) отбирали, переносили в 2 предварительно промаркированные пробирки типа эппендорф по 1 мл и замораживали при температуре -70°C .

Обработка образцов сыворотки крови

Для фракционирования образцов сывороток крови использовали набор для профилирования, содержащий магнитные микрочастицы со слабой катионообменной поверхностью MB-WCX (Bruker Daltonics, Германия). Фракционирование сывороток крови проводили с помощью специализированного робота ClinProt robot (Bruker Daltonics, Германия) по протоколу, рекомендованному производителем магнитных микрочастиц. Элюаты наносили на стальную полированную 384-точечную МС-мишень (MTP 384 target plate polished steel TF) в 2 повторах, после высушивания на воздухе образец покрывали раствором матрицы. В качестве матрицы применяли смесь 2,5-дигидроксibenзойной (3 мг/мл) и α -цианогидроксикоричной (2,4 мг/мл) кислот в смеси метанол—ацетонитрил—вода в соотношении 5:4:1.

Времяпролетная МС с матрично-активированной десорбцией/ионизацией

Масс-спектры получали с использованием времяпролетного масс-спектрометра Ultraflex (Bruker Daltonics, Германия). Десорбцию образцов осуществляли иррадиацией азотным лазером (длина волны 337 нм), работающим при частоте 25 Гц. Для удаления пиков матрицы применяли максимальный уровень подавления сигнала, вплоть до 900 Да. Спектры регистрировали в линейном режиме положительно заряженных ионов в диапазоне масс 1–15 кДа. Для калибровки использовали калибровочную смесь, содержащую пептиды и белки, в диапазоне масс 1–17 кДа. Для увеличения чувствительности детекции избыток матрицы удаляли 8 импульсами лазера при 50 % мощности с последующей аккумуляцией данных при мощности лазера 27 %. Для каждого спектра суммировали результаты 720 лазерных импульсов (по 60 импульсов с 12 различных точек пятна). Суммировали спектры с отношением сигнал/шум > 5 и разрешением > 300 .

Анализ МС-данных

Анализ МС-данных проводили с помощью компьютерной программы ClinProTools 2.1 (Bruker Daltonics, Германия). Математические модели для классификации масс-спектров смеси пептидов и белков, полученных после фракционирования сывороток крови, строили на основе генетического алгоритма (ГА) и управляемой нейронной сети (УНС) [18].

Для построения классификационных моделей масс-спектры каждой из групп (контроля и аденомиоза, контроля и РТМ) разделяли пополам, при этом одну пару использовали для построения классификационной модели, а вторую — для ее валидации.

Результаты и обсуждение

Фракционирование сывороток крови с использованием магнитных микрочастиц MB-WCX

На основании МС-профилирования сывороток крови после их фракционирования на магнитных микрочастицах со слабой катионообменной поверхностью (MB-WCX) были построены классификационные модели с применением обоих математических алгоритмов. В случае аденомиоза при использовавшихся параметрах обработки масс-спектров в них воспроизводимо детектировали 96 пиков. После изучения вклада площадей отдельных пиков в классификационные модели 3 пика были выделены как наиболее значимые для их специфичности и чувствительности.

Для оценки достоверности построенных моделей применяли образцы сыворотки крови групп

аденомиоза ($n=14$) и контроля ($n=29$), не использовавшихся для построения классификационных моделей. Значения чувствительности и специфичности построенных математических моделей классификации приведены в табл. 4.

Таблица 4. Значения чувствительности и специфичности, полученные при внешней валидации классификационных моделей МС-профилей при аденомиозе

Показатель	Математическая модель	
	ГА	УНС
Чувствительность, %	95,8	79,2
Специфичность, %	96,2	100

Примечание. Чувствительность — процент правильно идентифицированных сывороток крови группы аденомиоза. Специфичность — процент правильно идентифицированных сывороток крови группы контроля.

Посредством визуального анализа статистических диаграмм изменения площадей МС-пиков между различными группами образцов были определены 3 пика, при которых хотя и наблюдается пересечение в диапазонах изменения их площадей между группами, но пересечение это $< 50\%$, т. е. их 25 и 75% квантили не пересекаются (рис. 1). Подобные пики не могут соответствовать специфическим биомаркерам аденомиоза, поскольку при значениях их площадей, существенно отличающихся от среднего для группы, ни один из них не позволит корректно отнести образцы к конкретной группе. Однако сочетания таких пиков в классификационных моделях могут обуславливать довольно высокие значения специфичности и чувствительности, что и наблюдается в данном случае.

Итоговый анализ МС-профилей образцов сывороток крови групп аденомиоза и контроля, фракционированных с использованием магнитных микрочастиц MB-WCX, представлен на рис. 2.

В случае РТМ при использовавшихся параметрах обработки масс-спектров в них воспроизводимо детектировали 256 пиков. После изучения вклада площадей отдельных пиков в классификационные модели 3 пика были выделены как наиболее значимые для их специфичности и чувствительности.

Для оценки достоверности построенных моделей применяли образцы сыворотки крови групп РТМ ($n=21$) и контроля ($n=21$), не применявшихся для построения классификационных моделей. Значения чувствительности и специфичности построенных математических моделей классификации приведены в табл. 5.

Таблица 5. Значения чувствительности и специфичности, полученные при внешней валидации классификационных моделей МС-профилей при РТМ

Показатель	Математическая модель	
	ГА	УНС
Чувствительность, %	85,7	90,5
Специфичность, %	81	90,5

Примечание. Чувствительность — процент правильно идентифицированных сывороток крови группы РТМ. Специфичность — процент правильно идентифицированных сывороток крови группы контроля.

Анализ статистических диаграмм изменения площадей МС-пиков между различными группами образцов РТМ, так же как и в случае аденомиоза, позволил выявить 3 пика, причем диапазоны изменения площадей между группами пересекались менее чем на 50% (рис. 3).

Итоговый анализ МС-профилей образцов сывороток крови групп РТМ и контроля, фракционированных с использованием магнитных микрочастиц MB-WCX, представлен на рис. 4.

Специфичность классификационной модели аденомиоз—контроль с использованием группы образцов

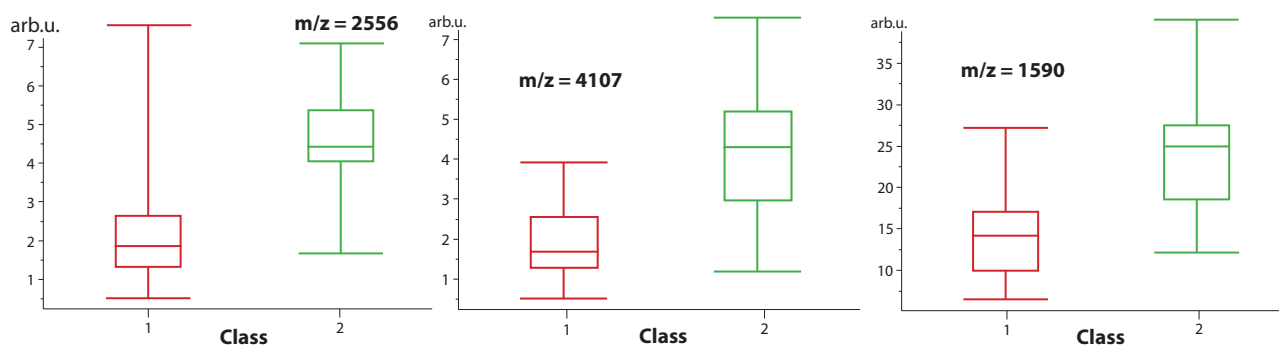


Рис. 1. Статистическая диаграмма изменения площадей МС-пиков при аденомиозе

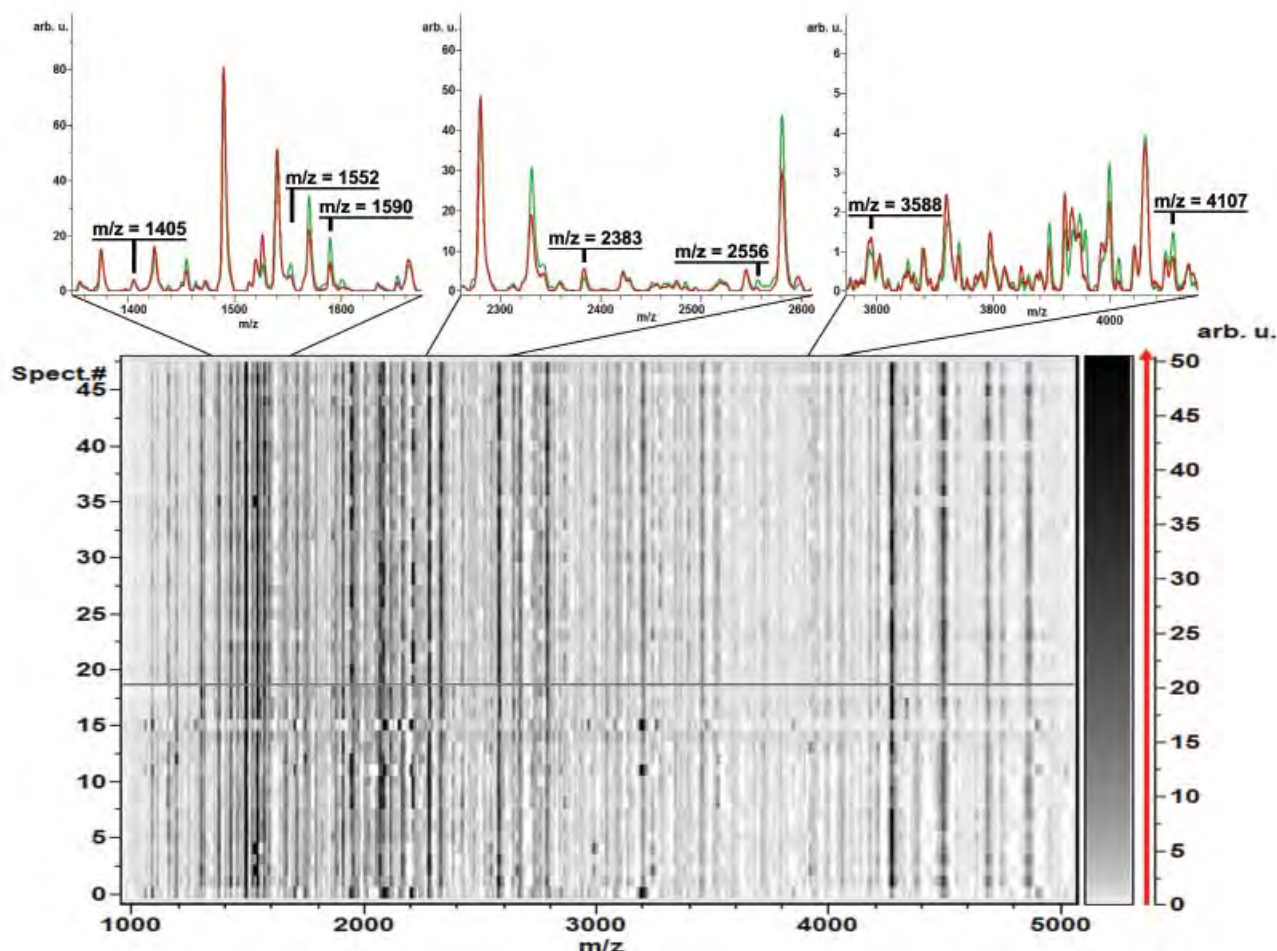


Рис. 2. МС-профили групп аденомиоза и контроля

РТМ составила 51,2%, модели РТМ—контроль по отношению к группе образцов аденомиоза — 81%. В классификационную модель аденомиоз—контроль были включены МС-пики со значениями 1405, 1552, 1590, 2383, 2556, 3588, 4107, а в модель РТМ—контроль — 1896, 1951, 1967, 2021, 2931, 3507, 4013 m/z.

Привлекательность использования плазмы (сыворотки) крови для диагностики различных заболеваний человека обусловлена главным образом тем

обстоятельством, что она наиболее полно представляет фенотип человека, его состояние в конкретный момент времени. Еще одно немаловажное достоинство плазмы (сыворотки) крови — ее доступность, поскольку она является наиболее распространенным в медицинской практике первичным биологическим образцом.

На сегодняшний день нет однозначного ответа на вопрос, в какой связи находятся регистрируемые

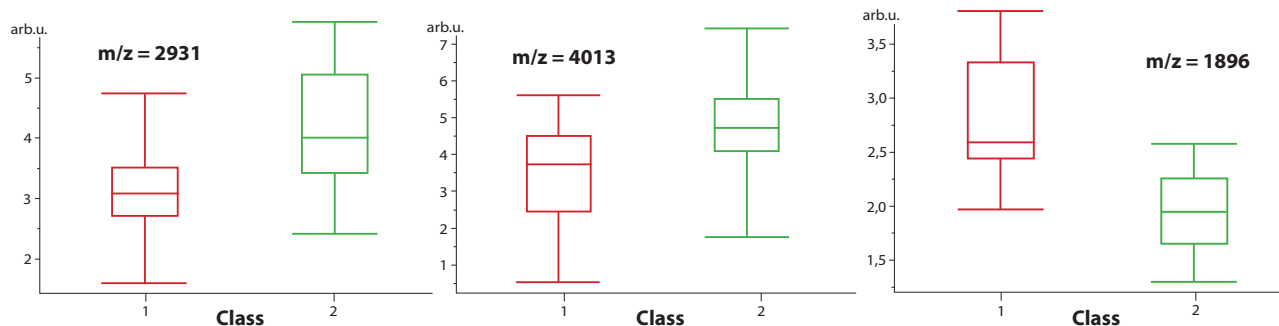


Рис. 3. Статистическая диаграмма изменения площадей МС-пигов при РТМ

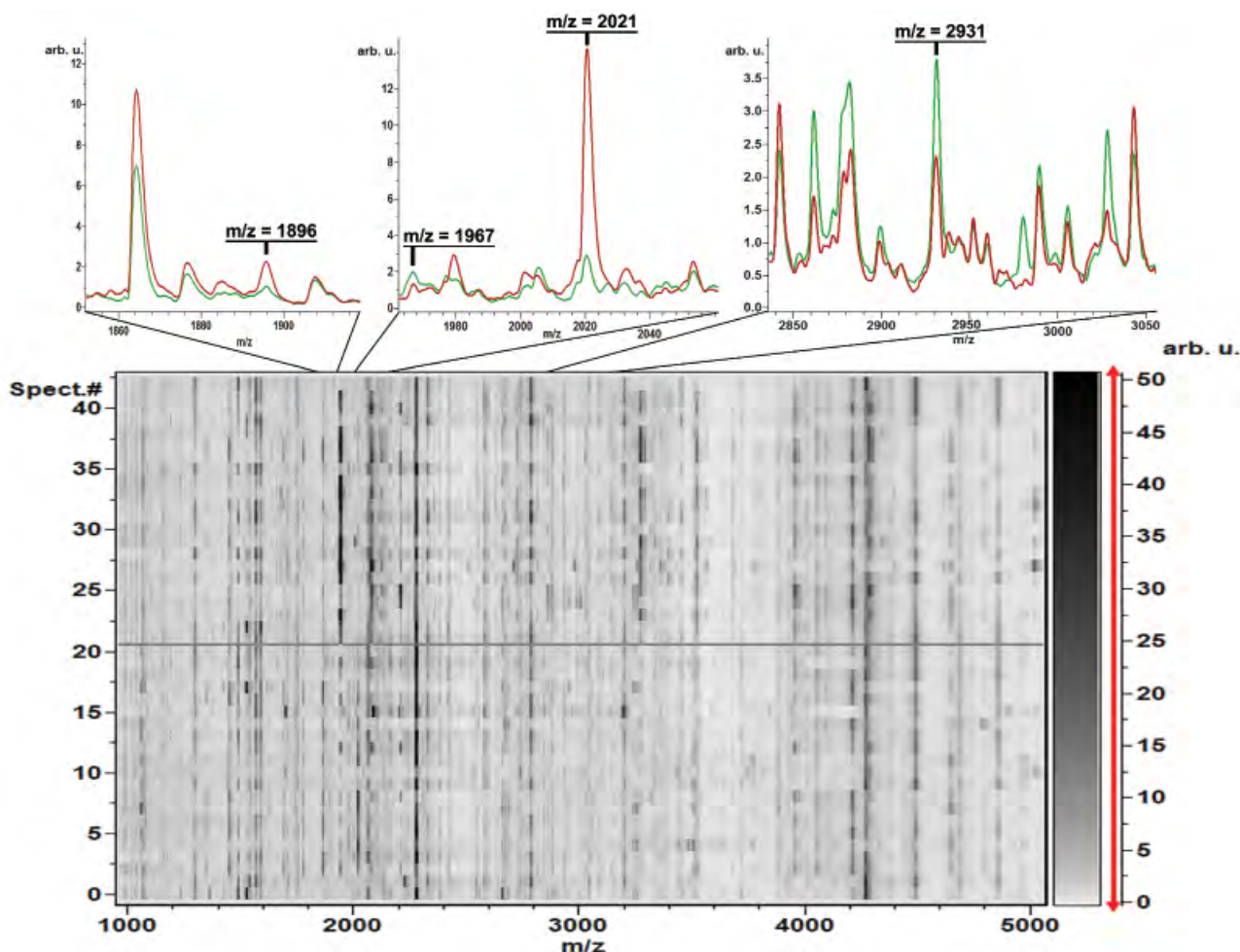


Рис. 4. МС-профили групп РТМ и контроля

в сыворотке крови изменения пептидно-белковых паттернов с исследуемым патологическим процессом в организме. Предполагается, что эти изменения могут отражать реальные колебания концентраций белков и пептидов, напрямую ассоциированных с заболеванием, но, с другой стороны, нельзя исключить и возможность их возникновения, например, в результате вызванных патологией отклонений в процессах свертывания крови *ex vivo* при получении из нее сыворотки.

С нашей точки зрения, диагностическая ценность обнаруженных сигнатур не зависит от природы их развития при условии строгой воспроизводимости появления их в сыворотке крови больных. Ранее было показано, что процедура получения сыворотки, в частности длительность временной задержки до отделения сыворотки от образовавшегося

сгустка в процессе свертывания крови, не влияет на ее МС-профиль.

Заключение

Полученные результаты открывают новые перспективы для ранней диагностики РТМ и аденомиоза, что, несомненно, имеет большое значение в условиях роста частоты развития данных патологий за последние годы, а также выявления их в молодом возрасте.

Наши дальнейшие исследования будут посвящены установлению структур выявленных в сыворотках крови потенциальных биомаркеров аденомиоза и РТМ. Примеры подобных работ описаны в литературе и, как правило, базируются на использовании tandemной МС с ионизацией электрораспылением, сопряженной с обращеннофазовой жидкостной нанохроматографией [24, 25].

ЛИТЕРАТУРА

1. Баскаков В.П., Цвелев Ю.В., Дячук А.В. Вопросы этиологии и патогенеза эндометриоза (эндометриозная болезнь и рак). Материалы научно-практической конференции «Новые подходы к скринингу, диагностике и лечению опухолей яичников». Великий Новгород, 17–18 мая 2001 г. СПб., 2001.
2. Адамян Л.В., Андреева Е.Н. Генитальный эндометриоз: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение. Методическое пособие для врачей. М., 2001.
3. Ищенко А.И., Кудрина Е.А. Эндометриоз: современные аспекты. М.: МИА, 2008; с. 3–11.
4. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы. М.: Медицина, 2006.
5. Адамян Л.В., Спицын В.А., Андреева Е.Н. Генетические аспекты гинекологических заболеваний. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
6. Клиническая онкогинекология. Руководство для врачей. Под ред. В.П. Козаченко. М.: Медицина, 2005; с. 155–7.
7. Лекции по онкогинекологии. Под ред. В.В. Кузнецова, В.А. Хайленко. М.: ЛЮКС-ПРИНТ, 2009.
8. Полина М.Л. Генетические детерминанты гинекологических и маммологических заболеваний у женщин репродуктивного возраста. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2008.
9. Lax S. Molecular genetic pathways in various types of endometrial carcinoma: from a phenotypical to a molecular-based classification. *Virchow Arch* 2004;444:213–23.
10. Коран Е.А., Демур Т.А., Низяева Н.В. и др. Экспрессия онкомаркеров в очагах аденомиоза: клинико-морфологическое и иммуногистохимическое исследование. *Онкология* 2009;10:524–41.
11. Стрижаков А.Н., Давыдов А.И. Эндометриоз. Клинические и теоретические аспекты. М., 2001.
12. Чулкова О.В., Новикова Е.Г. К вопросу о лечении рака эндометрия у молодых. *Казан мед журн* 2000;81(4):297–300.
13. Berek J.S., Adashi E.Y., Hillard P.A. *Novak's Gynecology*. Baltimore: Williams and Wilkins, 2002.
14. Irvin W.P., Rice L.W. Benefit in treatment of endometrial carcinoma. *J Reprod Med* 2002;47(3):173–89.
15. Anderson N.L., Anderson N.G. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. *Mol Cell Proteom* 2002;1:845–67.
16. Ильина Е.Н., Говорун В.М. Масс-спектрометрия нуклеиновых кислот в молекулярной медицине. *Биоорган хим* 2009;2(35):1–16.
17. Baumann S., Ceglarek U., Fiedler G.M. et al. Standardized approach to proteome profiling of human serum based on magnetic bead separation and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Chem* 2005;51:973–80.
18. Sen-Yung H., Ren-Kung C., Yi-Hsin P., Hai-Lun L. Systematical evaluation of the effects of sample collection procedures on low-molecular-weight serum/plasma proteome profiling. *Proteomics* 2006;6:3189–98.
19. Tammen H., Schulte I., Hess R. et al. Peptidomic analysis of human blood specimens: comparison between plasma specimens and serum by differential peptide display. *Proteomics* 2005;5:3414–36.
20. Hammer B., Strickert M., Villmann T. Supervised neural gas with general similarity measure. *Neur Process Letter* 2005;21:21–44.
21. Kikuchi S., Honda K., Handa Y. et al. Serum albumin-associated peptides of patients with uterine endometrial cancer. *Cancer Sci* 2000;98:822–31.
22. Зиганшин Р.Х., Алексеев Д.Г., Арапиди Г.П. и др. Поиск потенциальных биомаркеров рака яичников в сыворотке крови. *Биомед хим* 2008;54:408–19.
23. Geho D.H., Liotta L.A., Petricoin E.F. et al. The amplified peptidome: the new treasure chest of candidate biomarkers. *Curr Opin Chem Biol* 2006;10:50–5.
24. Tiss A., Smith C., Camuzeaux S. et al. Serum peptide profiling using MALDI mass spectrometry: avoiding the pitfalls of coated magnetic beads using well-established ziptip technology. *Proteomics* 2007;7:77–89.
25. West-Norager M., Kelstrup C.D., Schou C. et al. Unravelling in vitro variables of major importance for the outcome of mass spectrometry-based serum proteomics. *J Chromat* 2007;847:30–7.