

Е.Г. Шварев¹, Д.Л. Оводенко², Л.В. Дикарева¹, О.Е. Зайцева²

МОРФОСТРУКТУРНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ ЯИЧНИКОВ

¹ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

²ГУЗ «Областной онкологический диспансер», г. Астрахань

Представлены результаты биохимического и морфоструктурного исследования биологических жидкостей (сывороток крови, эндометриальных смывов и менструальных выделений) больных с воспалительными заболеваниями, доброкачественными и злокачественными опухолями придатков матки. Эффективность раннего выявления доброкачественных и злокачественных опухолей яичников может быть повышена использованием (наряду с традиционными способами обследования) метода клиновидной дегидратации биологических жидкостей, а также оценки содержания в них карбонильных групп белков.

Ключевые слова: опухоли яичников, эндометриальные смывы, менструальные выделения, перекисное окисление белков, карбонильные группы белков.

E.G. Shvarev, D.L. Ovodenko, L.V. Dikareva, O.E. Zaysceva

MORPHOSTRUCTURAL AND BIOCHEMICAL PECULIARITIES OF BIOLOGICAL FLUIDS IN PATIENTS WITH OVARIAN TUMOURS

The article deals with the results of biochemical and morphostructural investigation of biological fluids (blood serum, endometrial fluids and menstrual discharges) of patients with inflammatory diseases, benign and malignant tumours of uterine appendages. The effectiveness of early diagnostics of benign and malignant ovarian tumours may be increased by usage (alongside with traditional methods of observation) of method of wedge dehydration of biological fluids and content estimation of carbonyl protein groups in them.

Key words: ovarian tumours, endometrial fluids, menstrual discharges, peroxide oxidation of proteins, carbonyl protein groups.

Актуальность. Ранняя диагностика доброкачественных и злокачественных опухолей яичников является, как известно, одной из наиболее сложных проблем гинекологии и онкогинекологии. Среди прочих причин это связано с тем, что опухоли гонад, относящиеся к новообразованиям внутренней локализации, отличаются на начальных этапах развития скудностью клинических проявлений [5, 8, 11].

Согласно данным ряда исследователей [4, 10], в патогенезе как воспалительных, так и опухолевых заболеваний придатков матки особое место занимают процессы окислительного повреждения липидов и белков, приводящие к развитию т.н. оксидативного стресса. Нарушение антиоксидантной защиты, увеличение содержания продуктов перекисного окисления липидов и белков ведет к повреждению рецепторного аппарата страдающего органа, изменениям в генетическом аппарате клеток и регуляции апоптоза, приближению биологических пределов жизнедеятельности клеток [3]. Все это способствует интенсификации развития патологического процесса в тканях в связи утратой ими чувствительности к гуморальным влияниям [1, 2]. Считается, что наиболее ранними и достоверными маркерами формирующегося оксидативного стресса являются продукты окислительной модификации белков, в составе которых присутствуют карбонильные группы (КГБ) [6, 9].

Принципиально новым научным направлением является учение о функциональной морфологии биологических жидкостей (БЖ). Микроскопическая картина высушенной в стандартных условиях капли (фации) характерна для каждого вида БЖ человека, связана с особенностями течения физиологических и патологических процессов в организме, позволяет получить интегральную оценку состояния как локального, так и системного гомеостаза [7].

В немногочисленных работах, посвященных биохимическому и морфоструктурному анализу БЖ при гинекологических заболеваниях, объектом исследования чаще всего была сыворотка крови (СК). Исследований, касающихся изучения эндометриального секрета (ЭС) или менструальных выделений (МВ) – БЖ, содержащихся и вытекающих непосредственно из патологически измененных внутренних гениталий, в доступной литературе практически нет.

Целью настоящего исследования явилось усовершенствование ранней диагностики эпителиальных опухолей яичников путем определения морфоструктурных особенностей эндометриального секрета, менструальных выделений и оценки содержания в них продуктов оксидативного стресса.

Нами были проанализированы клиничко-лабораторные данные от 388 пациенток: 171 с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ), 37 больных раком яичников (РЯ) и 95 женщин, не имевших заболеваний репродуктивных органов, составивших контрольную группу. В группу сравнения вошли 36 больных хроническим воспалением придатков матки (ХВПМ) в стадии ремиссии и 28 – обострением хронического аднексита.

Содержание КГБ в БЖ обследуемых больных. Установлено, что содержание КГБ в СК больных ДОЯ всех возрастов и РЯ репродуктивного возраста было достоверно выше по сравнению с таковым в контрольной группе. При этом, как при доброкачественных, так и при злокачественных новообразованиях значения показателя были очень близкими. Содержание КГБ в СК больных ХВПМ не превышало показателя группы контроля, а при обострении процесса практически соответствовало аналогичным показателям больных ДОЯ и РЯ ($p>0,05$) (табл. 1).

Более заметные различия в содержании КГБ были отмечены при исследовании ЭС пациенток указанных групп. Так, у женщин контрольной группы всех возрастов уровень маркера находился в пределах 0-1,9 ($0,9 \pm 0,26$) нмоль/мг. При повышении его до 2,0-3,5 ($2,5 \pm 0,32$) нмоль/мг в большинстве случаев выявлялись ДОЯ ($p<0,05$), а при достижении величины 3,6-4,9 ($4,3 \pm 0,84$) нмоль/мг – РЯ ($p<0,01$) (табл. 2).

Таблица 1

Содержание карбонильных групп белков в сыворотке крови обследованных пациенток, нмоль/мг ($M \pm m$)

№	Группы пациенток	Репродуктивный возраст	Период менопаузы
1	Контрольная группа	$0,9 \pm 0,04$ (n=56)	$1,0 \pm 0,04$ (n=39)
2	ДОЯ	$1,3 \pm 0,07$ (n=142)	$1,2 \pm 0,05$ (n=29)
3	РЯ	$1,3 \pm 0,10$ (n=5)	$0,7 \pm 0,12$ (n=22)
4	ХВПМ, обострение	$1,2 \pm 0,09$ (n=28)	-
5	ХВПМ, ремиссия	$0,9 \pm 0,09$ (n=36)	-
Р		p 1 и 2<0,01; p 1 и 3<0,05; p 2 и 3>0,05; p 1 и 4<0,05; p 1 и 5>0,05; p 2,3 и 4>0,05	p 1 и 2<0,05; p 1 и 3>0,05; p 2 и 3>0,05

У больных ХВПМ, особенно при обострении процесса, содержание КГБ в ЭС по сравнению с контролем несколько увеличивался, не достигая, однако, аналогичных показателей больных ДОЯ и РЯ (табл. 2).

Таблица 2

Содержание карбонильных групп белков в эндометриальных смывах обследованных пациенток, нмоль/мг ($M \pm m$)

№	Группы пациенток	Репродуктивный возраст	Период менопаузы
1	Контрольная группа	$0,9 \pm 0,14$ (n=56)	$0,4 \pm 0,13$ (n=39)
2	ДОЯ	$2,8 \pm 0,28$ (n=142)	$2,3 \pm 0,20$ (n=29)
3	РЯ	$4,8 \pm 0,25$ (n=12)	$3,2 \pm 0,47$ (n=15)
4	ХВПМ, обострение	$1,6 \pm 0,26$ (n=28)	-
5	ХВПМ, ремиссия	$1,2 \pm 0,21$ (n=36)	-
Р		p 1 и 2<0,05; p 1 и 3<0,01; p 2 и 3<0,05; p 1 и 4,5>0,05	p 1 и 2<0,05; p 1 и 3<0,05; p 2 и 3>0,05

При изучении содержания КГБ в МВ пациенток указанных групп отмечено, что рассматриваемый показатель у больных ДОЯ достоверно превышал таковой в контрольной группе ($p<0,01$) (табл. 3). У больных ХВПМ содержание КГБ в МВ практически не отличалось от такого же показателя пациенток контрольной группы. При обострении ХВПМ, а также у больных ДОЯ различия показателя в рассматриваемых группах по сравнению с контрольной были достоверными ($p<0,05$) (табл. 3).

Таблица 3

Содержание карбонильных групп белков в менструальных выделениях обследованных пациенток, нмоль/мг ($M \pm m$)

Группы пациенток	Показатель
Доброкачественные опухоли яичников	$2,7 \pm 0,25^*$; ** (n=31)
Контрольная группа	$1,2 \pm 0,20^*$; ** (n=21)
Хронический аднексит, обострение	$1,7 \pm 0,18$ ** (n=13)
Хронический аднексит, ремиссия	$1,1 \pm 0,08$ ** (n=16)

Примечание: * $p<0,01$; ** $p<0,05$

Морфоструктурные особенности БЖ обследованных пациенток. При микроскопическом изучении фаций СК больных ХВПМ, ДОЯ и РЯ встречались практически все структурные элементы, описанные для ряда других заболеваний [Шабалин В. Н. с соавторами, 1999]. Специфичных морфоструктурных маркеров исследуемых заболеваний при этом выявлено не было [7].

Микроскопическая картина фаций ЭС женщин контрольной группы в репродуктивном возрасте характеризовалась четкой зональностью: периферическая зона – с радиальными трещинами и круглыми конкрециями и центральная – содержащая мелкие кристаллы, реже трещины – прямые, радиальные, как продолжение радиальных трещин периферической зоны (рис. 1). Кроме того, в 24,8% случаев в фациях появлялась третья зона, содержащая трехлучевые трещины, расположенная между двумя вышеописанными.

Площадь этой зоны не превышала $0,4 \text{ мм}^2$ ($0,2 \pm 0,16 \text{ мм}^2$ – у женщин репродуктивного возраста, у пациенток периода менопаузы она не встречалась).

У больных ХВПМ площади трехлучевых и радиальных трещин не отличались от аналогичных показателей женщин контрольной группы. Однако в этих случаях в картине фаций появлялись т.н. языковые структуры, «закрутки», рассматривающиеся в настоящее время как маркеры воспаления и гипоксии, свидетельствующие о напряжении механизмов адаптации (рис. 2).

Фации ЭС больных ДОЯ и РЯ заметно отличались по своему строению от таковых у женщин контрольной группы. Зональность фаций ЭС сохранялась у больных ДОЯ всех возрастных периодов, причем в 68,4% случаев в их структуре присутствовала зона трехлучевых трещин (рис. 2). Ее площадь составила $1,1 \pm 0,08 \text{ мм}^2$, превысив аналогичный показатель женщин контрольной группы ($p < 0,05$). У больных РЯ площадь зоны трехлучевых трещин на поверхности фации заметно увеличилась, достигнув $2,2 \pm 0,10 \text{ мм}^2$, достоверно различаясь с таковой в контрольной ($p < 0,01$) и в группе больных ДОЯ ($p < 0,05$; рис. 3).

В микроскопической картине фаций МВ женщин контрольной группы можно было более или менее четко выделить основные структурные элементы, описанные для фаций СК: трещины, отдельности – участки фации, со всех сторон ограниченные трещинами, и конкреции – округлые образования, расположенные в центральной зоне [7]. Трехлучевые трещины в фациях МВ женщин контрольной группы не встречались (рис. 4). В структуре фаций МВ больных ДОЯ сохранялось расположение основных элементов, однако в 68,3% случаев было отмечено появление трехлучевых трещин (рис. 5).



Рис. 1. Фация ЭС пациентки контрольной группы; $\times 10$

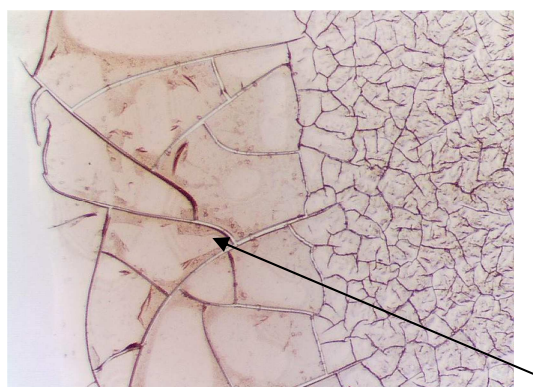


Рис. 2. Фрагмент фации ЭС больной обострением хронического аднексита - языковые структуры; $\times 25$

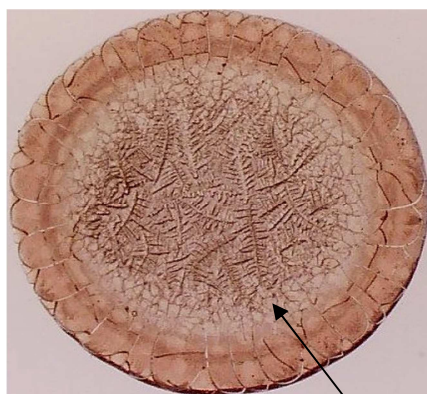


Рис. 2. Фация ЭС больной ДОЯ: зона трехлучевых трещин площадью $1,0 \text{ мм}^2$; $\times 10$

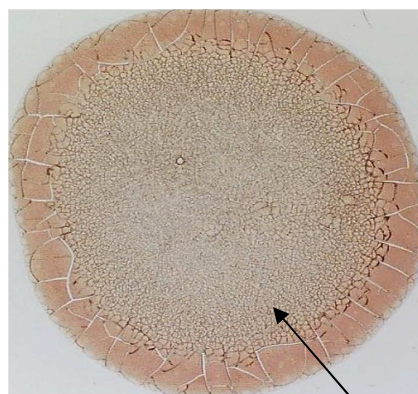
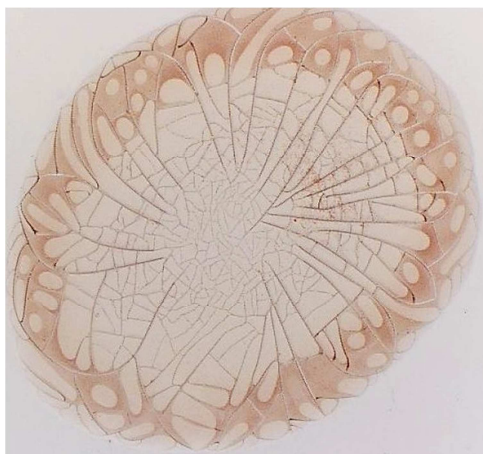


Рис. 3. Фация ЭС больной РЯ: площадь зоны трехлучевых трещин $2,1 \text{ мм}^2$; $\times 10$



**Рис. 4. Фация МВ пациентки контрольной группы;
×10**

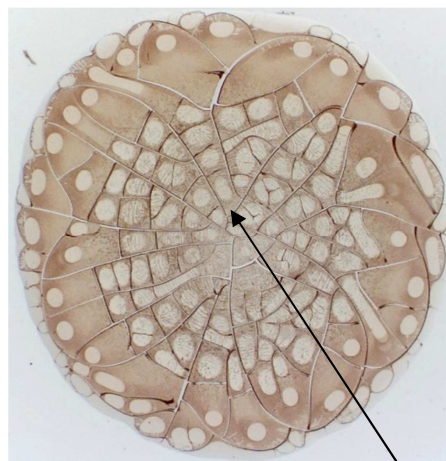


Рис. 5. Фация МВ больной ДОЯ, трехлучевые трещины; ×10

Таким образом, нарастание содержания КГБ в СК, ЭС и МВ является ранним признаком формирования воспалительных образований, доброкачественных и злокачественных опухолей яичников. Определение уровня КГБ в ЭС и МВ в диагностическом аспекте является более информативным, чем в СК обследуемых пациенток. Уровень КГБ в ЭС и МВ, превышающий 1,2 нмоль/мг, свидетельствует о наличии у пациентки воспаления придатков матки, от 2,0 нмоль/мг – доброкачественной опухоли, свыше 4,0 нмоль/мг – риске развития РЯ. Выявление при микроскопии на поверхности фаций ЭС, МВ пациенток трехлучевых трещин и увеличение их площади также указывает на вероятность формирования у пациенток ОЯ и требует углубленного их обследования. Важным преимуществом предлагаемого способа диагностики является неинвазивность и атравматичность забора исследуемого материала, возможность многократного его исследования в условиях женских консультаций, проведение анализов силами лабораторий лечебно-профилактических учреждений. Полученные результаты подтверждают возможность выявления заболевания на начальных этапах его развития, когда наиболее реальным становится выполнение органосохранных операций и, тем самым, сохранение репродуктивного здоровья женщин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамян, Л.В., Гусаева Г.Х., Марченко И.А. [и др.] Теломеразная активность при сочетанных доброкачественных заболеваниях матки / Современные технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний: сборник научных трудов XX Юбилейной международной научно-практической конференции. – М., 2007. – С. 216-217.
2. Адамян, Л.В., Бургова Е.Н., Сонова М.М. [и др.] Окислительный стресс и генитальный эндометриоз (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2008. – С. 6-8.
3. Артымук, Н.В., Болдырева С.Н. Гиперпластические процессы эндометрия у пациенток с нейроэндокринной формой гипоталамического синдрома // Вестник перинатологии, акушерства и гинекологии. – Красноярск, 2000. – Вып. 7. – С. 324-328.
4. Ашрафян Л.А, Киселев В.И. Опухоли репродуктивных органов – М., 2007. – 210 с.
5. Кулаков В.И., Серов В.И., Гаспаров А.С. Гинекология: Учебник для студентов медицинских вузов. – М., 2005. – 616 с.
6. Флеров М.А., Шаляпина В.Г. Свободнорадикальное окисление липидов в мозгу активных и пассивных крыс в ходе развития постстрессорных депрессий // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2008. – Т. 94, № 5. – С. 592-597.
7. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Структурная форма информации в биологических жидкостях // Актуальные проблемы геронтологии. – М., 1999. – С. 139-143.
8. Akdeniz N, Kuyumcuoğlu U, Kale A. [et al.]. Risk of malignancy index for adnexal masses. // Eur. J. Gynaecol. Oncol. – 2009. – Vol. 30, № 2 – P. 178-180.
9. Krzesiek E, Pytrus T, Kosmowska A, Iwańczak B. Carbonyl groups content in serum proteins as an indicator of disease activity in children with inflammatory bowel diseases and its dependence on the other markers of inflammatory process // Pol. Merkur. Lekarski. – 2008 Dec. – Vol. 25, № 150. – P. 455-459
10. Meier B.W., Gomez J.D., Kirichenko O.V., Thompson J.A. Mechanistic basis for inflammation and tumor promotion in lungs of 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol-treated mice: electrophilic metabolites alkylate and inactivate antioxidant enzymes. // Chem. Res. Toxicol. – 2007 Feb. – Vol. 20, № 2. – P. 199-207.
11. Shwayder J.M. Pelvic pain, adnexal masses, and ultrasound. // Semin. Reprod. Med. – 2008 May. – Vol. 26, № 3. – P. 252-265.

Шварев Евгений Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии ФПО ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 414000, ул. Бакинская, 121. Тел. (8512) 26-01-39

Оводенко Дмитрий Леонидович, врач-онколог, ГУЗ «Областной онкологический диспансер», Россия, 414041, ул. Б. Алексеева, 57, тел. (8512) 45-92-20, e-mail: ovodenko_d@mail.ru

Дикарева Людмила Васильевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ФПО ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 414000, ул. Бакинская, 121. Тел. (8512) 26-01-39

Зайцева Ольга Евгеньевна, кандидат медицинских наук, врач-онколог, ГУЗ «Областной онкологический диспансер», Россия, 414041, ул. Б. Алексеева, 57, тел. (8512) 45-92-20