

Биохимические и морфоструктурные особенности биологических жидкостей больных быстрорастущей миомой матки

Е.Г. Шварев, Л.В. Дикарева, А.К. Аюпова, Г.Е. Шварев

Кафедра акушерства и гинекологии ФПО ГОУ ВПО Астраханская государственная медицинская академия Росздрава

Контакты: Людмила Васильевна Дикарева dikarevalv@mail.ru

В работе проанализированы и представлены клинико-лабораторные данные 978 пациенток, 268 (27,4%) из которых — женщины контрольной группы, не имевшие опухолей репродуктивных органов, 478 (48,8%) — больные миомой матки (ММ) с медленным и 232 (23,7%) — с быстрым ростом ММ. Разработан и апробирован новый способ диагностики быстрорастущей ММ, в том числе при сочетании ее с гиперпластическими процессами эндометрия, основанный на сравнении показателей содержания продуктов перекисного окисления биомолекул в исследуемых биологических жидкостях (эндометриальные смывы) и анализе их морфоструктурных особенностей. Для объективизации оценки темпов роста опухоли предложена математическая модель расчета объема матки. Предлагаемый комбинированный подход позволяет выявить наличие ММ, темп ее роста, состояние эндометрия, оценить вероятность появления рецидива опухоли после выполнения консервативных операций.

Ключевые слова: гормонозависимые опухоли репродуктивных органов, быстрорастущая миома матки, гиперпластические процессы эндометрия, эндометриальные смывы, менструальные выделения, перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, окислительная модификация белков

The biochemical and morphostructural features of biological fluids in patients with rapidly growing uterine myoma

E.G. Shvarev, L.V. Dikareva, A.K. Ayupova, G.E. Shvarev

Department of Obstetrics and Gynecology, Astrakhan State Medical Academy, Russian Agency for Health Care

The paper analyzes and presents the clinical and laboratory data of 978 female patients, including 268 (27.4%) control women having no reproductive organ tumors, 478 (48.8%) and 232 (23.7%) patients with slowly and rapidly growing uterine myoma (UM), respectively. A new procedure has been developed and tested to diagnose rapidly growing UM, including the latter concurrent with endometrial hyperplastic processes, which is based on the comparison of the levels of lipid peroxidation products in the biomolecules in the study biological fluids (endometrial lavages) and on the analysis of their morphostructural features. A mathematical model to calculate uterine volume has been proposed to objectify the estimation of tumor growth rates. The proposed multimodal approach makes it possible to detect UM, to determine its growth rate and endometrial status, and to assess the likelihood of a recurrence occurring after conservative surgery.

Key words: hormone-dependent reproductive organ tumors, rapidly growing uterine myoma, endometrial hyperplastic processes, endometrial lavages, menstrual discharge, lipid peroxidation, malonic dialdehyde, protein oxidation modification

Введение

Известно, что предрасположенность к возникновению и развитию миомы матки (ММ) формируется задолго до появления первых признаков заболевания. Своевременное выявление ММ и правильная оценка темпов ее роста помогает не только уточнить диагноз, но и составить индивидуальный прогноз и определить адекватную тактику ведения больных [1, 2].

Быстрорастущая ММ (БММ) требует проявления повышенной онкологической настороженности в связи с возможностью ее сочетания с гиперплазией эндометрия (ГПЭ), предраком и раком эндометрия (РЭ), опухолями яичников (ОЯ), а также трансформа-

ции в лейомиосаркому [3–6]. В связи с этим актуальным является поиск новых, простых по выполнению, информативных методов диагностики доклинических стадий заболевания ММ и критериев, позволяющих максимально точно объективизировать диагноз (в том числе и при наличии патологии эндометрия), которые можно было бы широко использовать на практике и, прежде всего, в условиях женской консультации.

Материалы и методы

Нами проанализированы клинико-лабораторные данные 978 женщин в возрасте от 24 до 76 лет. В контрольную группу вошли 268 (27,4%) пациенток, у которых отсутствовали опухоли репродуктивных органов.

Остальные были разделены на 2 группы: 1-ю, состоящую из 478 (48,8%) больных ММ с медленным темпом роста, и 2-ю, включавшую 232 (23,7%) пациентки, у которых отмечен быстрый рост ММ (увеличение размеров матки, соответственно, ≥ 4 нед беременности в течение 1 года).

Всем больным наряду с традиционным клинико-лабораторным обследованием проводили ультразвуковое исследование (УЗИ) молочных желез и органов малого таза (с помощью трансвагинального датчика), осуществляли забор мазков с экто- и эндоцервикса для онкоцитологического анализа, аспирата из полости матки и выполняли гистероскопию. Кроме того, был использован разработанный нами уточняющий способ диагностики БММ, основанный на сравнительной оценке объема матки, проведении структурного анализа биологических жидкостей — БЖ (эндометриальный секрет — ЭС или менструальные выделения — МВ), определении содержания в них конечных и промежуточных продуктов перекисного окисления липидов — ПОЛ, в частности малонового диальдегида (МДА), обладающего свойством клеточного токсина, а также продуктов карбонильных групп окислительно-модифицированных белков — ОМБ (КГБ — карбонильные группы белков), отражающих активность свободно-радикальных процессов. Оценку содержания МДА осуществляли по методике Е.А. Стрובה и Е.Г. Макарова (1986), а КГБ — по методике R.L. Levine и соавт. (1990), Е.Е. Дубининой и соавт. (1995).

Выбор ЭС в качестве исследуемой БЖ обусловлен тем, что эндометрий испытывает на себе влияние не только половых гормонов, но и продуктов ПОЛ и ОМБ, а также с тем, что при применении иммунофлюоресцентного и гистохимического исследования образцов нормального, гиперплазированного и малигнизированного эндометрия установлена способность ряда ферментов и их изоформ накапливаться в апикальных отделах железистых клеток, а затем выделяться в эндометриальную слизь [7].

Одним из свойств БЖ организма человека и животных является их способность к кристаллизации — сложному физико-химическому процессу, основанному на дегидратации биоматериала с образованием различных по химическому составу и свойствам кристаллогидратов. В практических условиях оценка процесса кристаллизации БЖ осуществляется с помощью метода клиновидной дегидратации [8–10]. Суть его заключается в переводе капли БЖ в твердую фазу (фацию) путем высушивания в стандартных условиях. Микроскопическая картина фации отличается наличием структур, характерных для каждого вида БЖ человека и связанных с особенностями течения физиологических и патологических процессов в организме.

Для проведения морфоструктурного анализа на предметное стекло наносили супернатант ЭС или МВ в количестве 0,2 мл. Каплю высушивали при комнатной температуре, относительной влажности воздуха 60–70% и минимальной его подвижности в течение 18–24 ч. Исследование структурообразующих элементов дегидратированной капли (фации), а также их фотографии, проводили при увеличениях от $\times 10$ до $\times 160$ с помощью стереомикроскопа M²-12 фирмы «Leica» и цветной цифровой телевизионной камеры «Pixega» (США). Морфометрические показатели фаций ЭС оценивали с использованием программы Image Tool.

Размер матки при миоме — один из главных параметров, оцениваемых при постановке диагноза и определении тактики лечения. Для объективизации показателей размеров матки и темпов роста миомы полученные при УЗИ параметры подвергали математической обработке с применением формулы, предложенной А.Н. Стрижаковым и соавт. (2000) и Е.М. Вихляевой (2004). За основу расчета объема матки взята формула вытянутого эллипсоида:

$$V_0 = 0,5236 \times A \times B \times C,$$

где А — длина тела матки, В — ее переднезадний размер, С — ширина [11, 12].

Расчет объема исследуемого органа проводили по модифицированной нами формуле: к указанному объему (V_0) дополнительно прибавлялся объем отдельных узлов ММ любой локализации. При этом каждый узел ММ условно рассматривался как шар, максимальный диаметр (D_i) которого также оценивали в ходе УЗИ:

$$V_i = 0,5236 (D_i)^3,$$

где V_i — объем 1, 2, 3-го и последующих узлов.

$$V = V_0 + V_1 + V_2 + V_3 \text{ и т.д.}$$

Показатели содержания МДА, КГБ, а также морфоструктурные особенности ЭС или МВ сопоставляли с результатами эхографического исследования размеров матки, цитологическими анализами аспиратов из полости матки и патогистологическими заключениями соскобов эндометрия.

Результаты

Установлено, что важными факторами, определяющими выбор врачебной тактики у больных ММ, являются объем матки и состояние эндометрия. Анализ клинического материала показал, что размеры матки (соответственно неделям беременности) колебались от нормальных значений в контрольной группе до $7,8 \pm 0,73$ у больных ММ с медленным и до $13,7 \pm 1,14$ — в группе с быстрым ростом опухоли ($p < 0,01$).

У 61 (26,3%) пациентки с быстрым ростом узлов строение эндометрия было нормальным, у 127 (54,7%) выявлена его железистая (ЖГЭ), а у 3 (1,3%) — атипическая (АГЭ) гиперплазия, в 41 (17,6%) случае диагностирован эндометрит. Кроме того, у 1 (0,4%) больной обнаружена карциносаркома, у 5 (2,2%) —

пролиферирующая ММ, у 37 (16,9%) – сочетание ММ с аденомиозом, а у 111 (47,8%) – с ОЯ.

У больных ММ с медленным ростом опухоли нормальное строение эндометрия отмечено в 231 (48,3%) наблюдении, ЖГЭ – в 79 (16,5%), АГЭ – в 4 (0,8%), эндометрит – в 87 (18,2%). Необходимо отметить, что все 23 (4,8%) случая РЭ были зарегистрированы у пациенток именно этой группы. Продолжительность существования ММ у больных РЭ в 87,9% случаев колебалась от 6 до 27 лет и в среднем составила $15,5 \pm 0,25$ года. Частота выявления карциносаркомы и ОЯ в данной группе соответствовала таковой у больных БММ: 3 (0,6%) и 213 (44,6%) случаев соответственно. Пролиферирующая ММ и аденомиоз у больных ММ с медленным темпом роста отмечались реже – 1 (0,2%) и 50 (10,5 \pm 1,6%) наблюдений ($p < 0,05$).

Полученные данные позволяют рассматривать ММ как один из существенных факторов риска развития на протяжении жизни женщины различных (в том числе и первично-множественных) опухолей репродуктивных органов.

В настоящее время накоплено множество фактов, указывающих на избыточную активацию процессов ПОЛ и ОМБ при ряде патологических состояний, в том числе и онкологических [13–17]. Существует мнение, что развитие гиперпластических процессов (ГПП) миоэндометрия происходит на фоне интенсификации реакций ПОЛ и ОМБ. Доказано, что накопление МДА приводит к изменению рецепторного аппарата и интенсификации патологического процесса в тканях. Обнаружение КГБ в структуре белковой молекулы связано с окислительным повреждением отдельных фрагментов ДНК, приводящим к появлению мутантных белков и возникновению на определенном этапе неопластической трансформации. Кроме того, у больных БММ описаны биохимические изменения, свойственные истинной опухоли: повышение скорости гликолиза – как аэробного, так и анаэробного [5].

В нашем исследовании определение МДА и КГБ проводилось одновременно в сыворотке крови и ЭС, но именно в ЭС, по мере нарастания тяжести патологии миоэндометрия, полученные результаты оказались наиболее наглядными (см. таблицу).

Из представленной таблицы видно, что по мере увеличения числа и объема узлов ММ, а соответственно, и объема матки, нарастали уровни МДА и КГБ в ЭС.

При оценке темпов роста отмечено, что для ММ с медленным ростом среднегодовое увеличение объема органа не превышало 12,5%, при ММ с «ложным» ростом – 14,9%, в то время как в группе больных ММ с истинным, быстрым ростом данный показатель превышал 21,3% ($p < 0,05$).

Анализ структурообразующих элементов, выявляемых методом клиновидной дегидратации ЭС, позволил выделить 3 типа фаций, характеризующих состояние эндометрия:

- радиальный – практически постоянно регистрировался у женщин контрольной группы (в обеих фазах менструального цикла) и в 48,4% случаев – у больных ММ с нормальным строением эндометрия (рис. 1, 2). Основными структурными элементами при этом типе фаций были радиальные трещины и отдельности;

- комбинированный – определялся у больных ММ в сочетании с ГПЭ, при нем еще сохранялась радиальность, но появлялось умеренное число трехлучевых трещин (рис. 3);

- трехлучевой – наиболее характерен для пациенток с АГЭ и РЭ (рис. 4, 5). В исследуемых препаратах больных РЭ, как правило, по всей площади фаций ЭС отмечалось появление сети трехлучевых трещин.

Таким образом, патогномичными признаками нарастания тяжести патологии эндометрия (в том числе и у больных БММ) служат увеличение удельного веса площади трехлучевых трещин ($S_{тр}$) и уменьшение площади радиальности ($S_{рад}$). Так, у женщин контрольной группы $S_{тр}$ соответствовала $0,4 \pm 0,06$ мм², у пациенток с ММ с нормальным строением эндометрия – $1,1 \pm 0,08$, а у больных ЖГЭ и АГЭ – $2,1 \pm 0,1$ и $3,2 \pm 0,58$ мм² соответственно. Максимального значения этот показатель достигал в группе пациенток, имеющих одновременно ММ и РЭ – $6,7 \pm 0,6$ мм² ($p < 0,05$).

Заключение

Предлагаемый подход позволяет получить информацию в короткие сроки, в разные возрастные

Объем матки, содержание МДА и КГБ при быстром и медленном темпах роста миомы

Группа	Объем матки, см ³	КГБ, ЭС, нмоль/мг	МДА, ЭС, нмоль
Контроль (n= 268)	50,5 \pm 1	1 \pm 0,16	0,4 \pm 0,01
ММ с медленным ростом (n = 478)	243,7 \pm 21,32	1,4 \pm 0,141	0,5 \pm 0,06
БММ с «ложным» ростом (n=41)	826 \pm 21,23	7,9 \pm 0,573, 4, 6	1,5 \pm 0,053, 4
БММ с истинным ростом (n = 191)	1636 \pm 79,63, 6	10,4 \pm 0,973, 4, 6	2,6 \pm 0,053, 4

¹ $p < 0,05$, ² $p < 0,01$, ³ $p < 0,001$ – в сравнении с нормой; ⁴ $p < 0,05$, ⁵ $p < 0,01$, ⁶ $p < 0,001$ – между показателями в подгруппах.

периоды жизни женщины, на малых объемах БЖ, с минимальными материальными затратами, оценить характер патологического процесса, определить оптимальный объем лечения. Другими важными особенностями предлагаемого метода являются

атравматичность забора материала, возможность одновременного проведения цитологического, биохимического и кристаллографического исследований, а также использования его в условиях женской консультации.

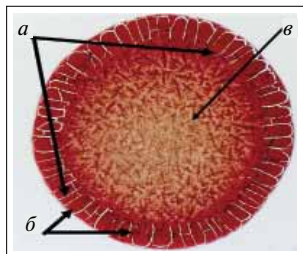


Рис. 1. Фация ЭС — радиальный тип, нормальное строение эндометрия: *a* — радиальные трещины, *б* — отдельности; *в* — солевая зона



Рис. 2. Фрагмент фации ЭС больной ММ с нормальным строением эндометрия: радиальный тип, наличие крупных трещин (*a*), формирующих между собой отдельности (*б*) и единичные трехлучевые трещины (*в*)

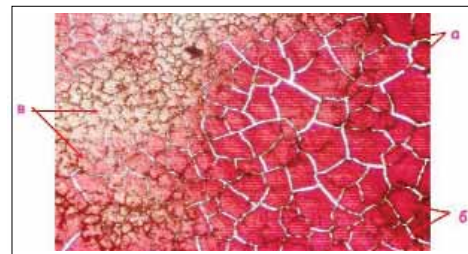


Рис. 3. Фрагмент фации смыва из полости матки больной ММ с ГПЭ: наличие крупных трещин (*a*), отдельностей (*б*) и умеренного числа трехлучевых трещин (*в*)

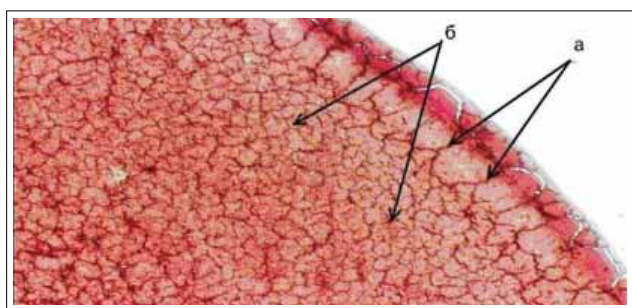


Рис. 4. Фрагмент фации эндометриального смыва больной АГЭ: *a* — единичные радиальные трещины, *б* — сеть трехлучевых трещин



Рис. 5. Фация эндометриального смыва при РЭ, сеть трехлучевых трещин (указана красными стрелками)

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Курашвили Ю.Б. Клинико-морфологический вариант «ложного роста» миомы матки у женщин репродуктивного возраста. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1997.
2. Тихомиров Л.А. Органосохраняющее лечение миомы матки. Современные достижения. Трудный пациент 2007;5(9):4–6.
3. Бохман Я.В., Урманчеева А.Ф. Саркомы матки. СПб.: Гиппократ, 1996.
4. Ключаров И.В. Клинико-лабораторные критерии диагностики пролиферативной активности миомы матки. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Казань, 2002.
5. Сидорова И.С. Миома матки. М.: МИА, 2003; с. 127–48.
6. Anastadiadis P.G., Skaphida P.G., Koutlaki N.G., Galasions G.C. Descriptive epidemiologie of endometrial hyperplasia in patients with abnormal uterine bleeding. Eur J Gynaecol Oncol 2000;(21):131–4.
7. Шварев Е.Г. Опухолевые маркеры в диагностике и оценке эффективности гормонотерапии рака эндометрия. Авто-

- реф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 1993.
8. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Системная самоорганизация биологических жидкостей организма и старения. Сборник 1-го Российского съезда геронтологов и гериатров. Самара, 1999; с. 502–5.
9. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М., 2001.
10. Потехина Ю.П. Значение морфологической картины биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения некоторых распространенных заболеваний у лиц пожилого и старческого возраста. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2004.
11. Стрижаков А.Н., Давыдов А.И., Белоцерковцева Л.Д. Клинические лекции по акушерству и гинекологии. М.: Медицина, 2000.
12. Вихляева Е.М. Лейомиомы матки. Руководство по диагностике и лечению. М.: МЕДпресс-информ, 2004.
13. Керимова Г.И. Процессы перекисного окисления липидов и простагландинов

- в злокачественных и доброкачественных опухолях яичников. Автореф. дис. ... канд. мед. наук, 1996.
14. Кашулина А.П. Особенности свободнорадикальных процессов при первично-множественных злокачественных заболеваниях у людей. Мед консулты 2000;(3):4–7.
15. Короткина Р.Н., Мащевич Г.Н., Девликанова А.Ш. Сравнительное исследование активности ферментов обмена глутатиона и антиоксидантных ферментов в злокачественных и доброкачественных опухолях человека. Бюлл экспер биол мед 2002;133(6):697–700.
16. Фролова М.Ю. Возможности метода определения карбонильных групп белков сыворотки крови для оценки состояния «окислительного стресса» в клинической практике. СПб., 2003.
17. Павлюченко И.И. Окислительный стресс, его мониторинг и критерии оценки антиокислительной активности лекарственных препаратов и БАД. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук, 2005.