

Р.С. СКАКОВА

*КазНМУ им. С.Д.Асфендиярова кафедра акушерства и гинекологии №2,
ГБСНП г. Алматы***ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА**

Изучение состава крови с эндометриозом, является перспективным, на основе данных многих исследователей к изменению липидного обмена при изучении патологии. С высокой вероятностью, учитывая известные данные о составе липидов белка текстур в формировании структуры можно сказать, что осаждают структурные компоненты клеточных мембран может способствовать аномальному образованию структуры в эндометриоза.

Вы также можете провести исследование, чтобы диагностировать эффективность лечения эндометриоза. После лечения, второй структурной и оптической исследования сыворотки крови, уменьшая количество текстур в размере и в количестве, ориентировочной эффективности терапии.

Ключевые слова: лаборатория, кровь, метод диагностики

В последние годы во всем мире активно разрабатываются новые не инвазивные методы диагностики и прогнозирования эндометриоза с использованием высокотехнологичных методов лабораторной диагностики. В качестве маркеров эндометриоза рассматриваются опухолевые антигены СА-125, СА 19-9, SICAM-1), иммунологические маркеры (интерлейкин-6, TNF α , антиэндометриальное аутоантитело, индикаторы окислительного стресса), генетические маркеры (функциональные полиморфизмы генов EGR-1, CYP1A19, PP14, GSTT), тканевые маркеры (экспрессия ароматазы, цитокератинов, рецепторов к стероидным гормонам). При этом особое место в диагностическом алгоритме продолжают занимать молекулярно-генетические методы исследования. Их преимуществами являются малая инвазивность, возможность использовать любого биологического материала пациента (кровь, биопсия соскоб), высокая воспроизводимость и высокая диагностическая точность. Часто встречались гены: EGR-1, GSTM1, IL-6, TNF α у больных наружным эндометриозом.

В то же время, применение молекулярно-генетических методов диагностики эндометриоза в странах СНГ является достаточно редким явлением, что объясняется высокой стоимостью оборудования и нехваткой квалифицированного персонала.

Ученые из Великобритании разработали новый лабораторный метод, который позволит изменить подход к диагностике эндометриоза на ранних стадиях. Инновационный тест основан на свойствах флуоресцентных частиц, делающих видимыми пораженные ткани. Команда ученых из университета Саутгемптона, Великобритания, разработала новый тест, позволяющий четко определять границу между пораженными и здоровыми тканями слизистой оболочки матки даже на ранних стадиях развития заболевания. Для этого в орган вводят флуоресцентные частицы, которые «освещают» патологические образования, делая их более доступной целью для хирургов. «Хотя мы провели лишь предварительное тестирование, наши результаты позволяют нам надеяться, что этот метод позволит нам вовремя диагностировать аномалии, которые невозможно обнаружить невооруженным глазом во время операции», - объясняют авторы работы. На ранних стадиях исследования целью ученых является улучшение визуализации проявлений болезни во время хирургического вмешательства, однако в будущем они собираются разработать стратегии, которые позволят вводить лекарство в пораженные области с помощью наночастиц без необходимости проведения операции.

Хотя современные медицинские препараты позволяют облегчить состояние пациенток с эндометриозом, основным методом борьбы с этим заболеванием остается хирургическая операция по удалению пораженных тканей. Однако, поскольку ранние стадии эндометриоза протекают практически бессимптомно, в итоге хирургам приходится удалять достаточно большие участки тканей.

Наиболее широко используемым диагностическим маркером является опухолевый мембранный антиген гликопротеиновой природы СА-125. Этот высокомолекулярный гликопротеин может быть определен иммунными методами с помощью моноклональных антител. По данным литературы, у 95-97% здоровых женщин уровень СА-125 не превышает 35 Ед/мл. Высокий уровень СА-125 в сыворотке крови определяют при эндометриозе, а также при циррозе печени, остром панкреатите, раке желудка и миоме матки. Повышение концентрации СА-125 задолго до клинического проявления генитального эндометриоза позволяет использовать его в мониторинге диагностики, эффективности лечения и рецидивирования ГЭ. Концентрация СА-125 в сыворотке крови при ГЭ зависит от локализации процесса, степени распространения. По данным Лещинского П.Т. концентрация СА-125 в сыворотке крови была повышенной у 100% больных ГЭ.

Поэтому диагностика эндометриоза с помощью данного теста без полного комплекса лабораторно-инструментальных исследований не правомерна.

Однако бесспорную ценность имеет мониторинг концентрации СА-125 в сыворотке крови пациенток для определения динамики заболевания, тактики последующего лечения и его эффективности.

Опухоль ассоциированным является также углеводный антиген СА 19-9. Несмотря на невысокую чувствительность данного маркера для диагностики эндометриоза, одновременное исследование содержания СА-125 и СА 19-9 позволяет улучшить диагностику заболевания.

Разработан новый универсальный диагностический тест на опухолевый рост (РО-тест), действующим началом которого является антиидиопатическая антиэмбриональная сыворотка. РО-тест отличается от классического морфологического метода диагностики опухолей тем, что этот маркер выявляет опухолевый рост в организме с момента функционирования в клетке стабильного в опухолевой прогрессии механизма самоподдержания. Тест может использоваться в непрямой иммунофлуоресценции на тканях для определения универсального антигенного маркера поверхностных мембран опухолевых клеток. Этот маркер присутствует в любых опухолевых клетках, на любой стадии прогрессии и высокоспецифичен для клеток опухолей различного гистогенеза. При определении диагностической и прогностической информативности РО-теста при эндометриозе, специфичность составляет 52,9%. При сопоставлении данных СА -125 и РО-теста, повышение уровня СА-125 совпадало с повышением уровня РО-теста при эндометриозе.

Анализ данных об информативности РО-теста и онкомаркеров (СА-125) у больных свидетельствует о том, что и РО-тест, и онкомаркеры являются наиболее показательными и чувствительными тестами для диагностики эндометриоза [различной локализации].

Недостатком предложенного теста является то, что количественные параметры СА-125 близки при эндометриозе, миоме матки, опухолях яичника, что снижает информативную значимость.

Многие исследователи отмечают общие изменения общего и местного иммунитета при ГЭ. Проведены исследования гуморального, клеточного и местного иммунитета у больных с эндометриозом.

Обнаружено значительное повышение уровня IgG в сыворотке периферической крови у больных с внутренним эндометриозом. При тяжелых формах эндометриоза отмечено увеличение содержания IgG в 1,4 раза, уровня IgM в 1,8 раз.

Таким образом, у больных эндометриозом выявлены существенные отклонения от нормы, как клеточных, так и гуморальных иммунологических компонентов крови. Это может свидетельствовать о том, что особенности нарушений иммунитета могут влиять на развитие эндометриозных поражений.

Есть работы об особенностях изменения показателей липидного и инфракрасного спектров сыворотки крови женщин репродуктивного возраста при эндометриозе и миоме матки.

ИК-спектрометрия, так и хроматографии позволило выявить характерные особенности изменения липидного спектра, а также ИК-спектра сыворотки крови, при этом ИК-спектрометрия является малозатратным методом, что позволяет его использовать в контроле процесса лечения.

Выявлено достоверное увеличение концентрации общих липидов, и уменьшение количества ФИ и ФХ ($p < 0,05$) свидетельствующее о выраженных нарушениях липидного обмена, что может являться фактором развития сочетанной патологии – внутреннего эндометриоза с миомой матки.

Развитие патологии изменяет показатели пропускания ИК-спектра сыворотки крови женщин, а также величины их колебания, которые выражены дисперсией. Наиболее информативными являются диапазоны показателей пропускания характерные для связей основных компонентов биологических жидкостей 3085 – 2732, 1543 – 963 см^{-1} и дисперсия области 2120 – 1623 см^{-1} , что может быть использовано для дифференциальной диагностики внутреннего эндометриоза и его сочетания с миомой матки.

Влияние консервативной терапии эстроген-гестагенным препаратом, содержащим 0,03 мг этинилэстрадиола и 2 мг диеногеста, обеспечивает восстановление липидного спектра до величин характерных для здоровых женщин, а также ведет к снижению количества ФЛ на 16,37%, и увеличению концентрации ФИ на 20%, что может быть использовано для контроля процесса лечения. Разработаны методические подходы к созданию модели дифференциальной диагностики и мониторинга проводимой терапии основанные на совместном определении липидного и инфракрасного спектров сыворотки крови.

Инфракрасная спектрометрия (ИКС) представляет одно из современных и перспективных направлений, основанное на регистрации особенностей параметров протекания фундаментальных биохимических процессов в организме и позволяющее оценить его функциональное состояние на уровне внутримолекулярных и межмолекулярных взаимодействий, т. е. на молекулярном уровне (Аношин А.Н., 1986).

Универсальная диагностическая аппаратно-программная система, разработанная под руководством профессора А.В. Каргаполова (патент на изобретение № 2137126 от 10.09.1999), делает возможным изучение биологической жидкости по характеру изменения коэффициентов пропускания инфракрасного излучения. Исследования характера таких изменений могут иметь важное значение для объяснения механизмов возникновения, и течения патологии, прогноза и возможности реабилитации больных, а также дифференциальной диагностики различных заболеваний. Имеются многочисленные данные о применении описанного метода в медицинской практике (Каргаполов А.В с соавт. 1999-2005; Гармонова Н.А. и соавт., 2006; Калинина О.В., Раскратов Ю.В., 2005).

Изменение содержания биохимических компонентов при патологических состояниях происходит как под воздействием эндо-, так и экзогенных факторов, т.е. от применения биологически активных веществ (лекарственных препаратов). В связи с этим актуален поиск дополнительных объективных параметров, способных уточнить биохимические аспекты развития заболевания, а также позволяющих мониторировать патологический процесс в организме.

Не смотря на широкое использование тонкослойной хроматографии и инфракрасной спектрометрии в различных исследованиях, совместных данных о липидном и инфракрасном спектрах крови у женщин репродуктивного возраста с аденомиозом и его сочетанием с миомой в литературе не найдено. В связи с выше сказанным, применение данных методов позволит получить новую информацию об особенностях биохимических процессов, протекающих у данной категории обследуемых.

В последние годы появились сообщения о важной роли фосфатидинозитов (ФИ) в жизнедеятельности организма. Фосфатидинозиты, являющиеся необходимым компонентом биологических мембран, выполняют функцию вторичных мессенджеров в передаче трансмембранных сигналов, имеющих непосредственное отношение к пролиферации клеток. Установлено наличие фосфатидинозитов в крови больных с эндометриозом и отмечалось достоверное снижение содержания ФИ, в крови больных эндометриозом в среднем в 1,6 раза.

В современной литературе имеются сведения о связи ПОЛ и пролиферации клеток. Избыточная активация ПОЛ приводит к образованию в клетках и тканях различных продуктов окисления: свободных радикалов, диеновых конъюгатов, альдегидов, обладающих токсичностью и способных инактивировать ферменты, вызывать повреждение мембран, лизис субклеточных структур, гибель клеток. Доказано, что усиление ПОЛ тормозит пролиферативную активность, возможно как за счет ингибирования ферментов, регулирующих и обеспечивающих пролиферацию, так и за счет деструкции. Установлена роль перекисного окисления липидов (ПОЛ), антиоксидантных систем (АОС) и циклических нуклеотидов (ЦН) в патогенезе эндометриоза яичников. Активация ПОЛ, АОС, цАМФ при начальных стадиях заболевания сопровождается снижением уровня цАМФ, ПОЛ, АОС, вследствие нарушения фосфолипидов клеточных мембран /6/. Патологическое усиление ПОЛ на ранних стадиях развития эндометриоза приводит к нарушению таких связанных с мембранами структурно-организованных процессов, как окислительное фосфорилирование и активный транспорт ионов. Повреждение клеточных мембран сопровождается нарушением внутриклеточного механизма, в частности, с распадом, лизисом и выходом гидролитических ферментов в цитозоль клетки /5/. Повышение активности протеолитических ферментов при эндометриозе обнаружено В.П. Баскаковым еще в 1967 году.

В последние годы сильно возрос интерес к изучению роли жидкокристаллического состояния вещества в биологических структурах. Можно без преувеличения сказать, что жидкокристаллическое (ЖК) состояние - эта часть органического мира (1). При изучении тканей организма с точки зрения учения о жидких кристаллах, ученые чаще убеждаются, что каждая клетка несет в себе элементы, находящиеся в жидко-кристаллическом состоянии (1,4).

Жидкокристаллическим или мезоморфным, называется такое состояние, которое обладает структурными свойствами, промежуточными между свойствами твердого кристалла и свойствами жидкости (2,7).

Биологические жидкости (кровь, желчь, спинномозговая и спинновивальная жидкости, слизи,) – это продукт жизнедеятельности клеток, тканей и органов, взаимосвязанный с функциональным состоянием клеток и органов, продуцировавших биологическую жидкость. При возникновении изменений в клетках возникают изменения и в биологических жидкостях.

Все биологические мембраны, состоят из бимолекулярного липидного слоя. Фосфолипид в составе клеточных и субклеточных мембран образующий бимолекулярный липидный слой, составляет от 40,0 до 90,0% общего количества липидов, также имеют жидкокристаллический белок-липидный комплекс. При патологических состояниях нарушается белок – липидный комплекс, ослабляющих межмолекулярные взаимодействия, обуславливают потерю структурных компонентов клеточных мембран. Под действием внутренних биофизических и биохимических процессов липид-белковые фрагменты клеточных мембран могут агрегировать и способствовать формированию патологических структур в крови /4,5/.

Мезоморфизм липидов обеспечивает возможность существования в биологических мембранах жидкокристаллического состояния. Жидкокристаллические свойства мембран определяются “расплавленным” состоянием липидов и формируют лиотропные жидкокристаллические (ЖКС) фазы в системах фосфолипидов (3,5).

Патогенез некоторых заболеваний также связан с изменениями фазового состава (соотношения жидкой, жидкокристаллической и твердокристаллической фаз). ЛПК играют важную роль в процессах жизнедеятельности организма

человека. Биологическая активность ЛПК во многом определяется фазовым состоянием липидной и белковой подсистем. В некоторых случаях изменение количества липопротеидов в крови является показателем патологических процессов, в частности при ишемической болезни сердца, болезни печени, амилоидозе (3).

Эти заболевания характеризуются выходом липидных мембран из мезоморфного состояния. Мезофазы могут поддерживать воспаление, угнетать тканевое дыхание. Жидкокристаллическое состояние связано с биохимическими факторами. Например, недостаток какого-либо фермента, приводит к накоплению жидких кристаллов. Получено экспериментальное подтверждение о взаимосвязи злокачественных новообразований с характером кристаллизации клеточных структур. Следует отметить, что почти все канцерогенные вещества и вирусы обладают кристаллическим строением. Есть работы, где исследовались фазовый состав желчи при холециститах, панкреатитах, состав слюны и мочи при различных патологиях. Параллельно проводились биохимические исследования, подтверждающие непосредственное участие химических реакции в образовании кристаллов.

Процессы кристаллизации, как само по себе присутствие кристаллов и твердых включений, еще не являются патологией. Кристаллы, определенным образом выражают структурную взаимосвязь между процессами агрегации и функциональной активности организма в норме и при патологии. Эта взаимосвязь может быть проанализирована на основе изучения физических (оптических) и механических свойств конденсированных фаз: мезоморфных, кристаллических, аморфных. Сопричастность мезоморфизма к патогенезу некоторых заболеваний позволяет прийти к выводу, что выступают ли жидкие кристаллы в организме в виде нормы или патологии, определяется тем, какие молекулярные комплексы (липиды, белки), в каком месте (клеточной структуре, ткани) и в какой момент образуют мезофазы, сколько времени существует данная структура.

Учитывая известные данные о липид-белковом составе текстур при структурообразовании, можно сказать, что выпавшие структурные компоненты клеточных мембран вносят свой вклад в патологическое структурообразование.

При ишемической болезни сердца жидкокристаллическая фаза сыворотки крови проявляется, в виде появлением линзовидных кристаллов.

При панкреатите у больных наблюдаются наличие в желчи массивных четырехугольных кристаллов.

При начальных формах лактационного мастита, при поляризационной микроскопии в сыворотке крови преобладали кристаллы в виде листовидных кристаллов.

Однако в гинекологической практике этот метод исследования не использован. Мы впервые (кафедра акушерства и гинекологии №2, под руководством профессора А.М.Дошановой) применяли для диагностики эндометриоза, структурно-оптическое исследование сыворотки крови в 2002г, имеются 5 предпатентов, 1 патент, по данной теме защищены 4 кандидатских диссертаций.

В данное время данный метод исследования проводится в отделение гинекологии ГБСНП для диагностики генитального эндометриоза.

Для диагностики синдрома при гинекологической патологии применялась поляризационная микроскопия -ф

В норме существует строго определенная последовательность фаз трансформации биологических структур. Это изофаза, мезофаза (жидкокристаллическая фаза), твердокристаллическая фаза. Нарушение указанной последовательности может происходить лишь при патологическом сдвиге в структурообразовании.

Изофаза - характеризуется гомогенным темным полем- у здоровых женщин.



Рисунок 1

Мезофаза или жидкокристаллическая фаза - наличием неоднородностей фона за счет акцентирования двулучепреломлением капель сопряжения липидного комплекса: сферолиты, бороздки, домены, мелкие радиально-лучистые кристаллы. При эндометриозе средней тяжести, рисунок 2.

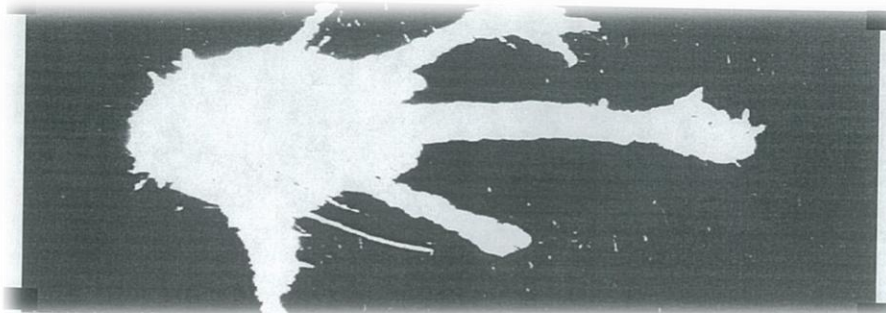


Рисунок 2

Твердокристаллическая фаза- крупные радиально-лучистые кристаллы, слоистые сферолиты- при эндометриозе тяжелой формы, рисунок 3,4.

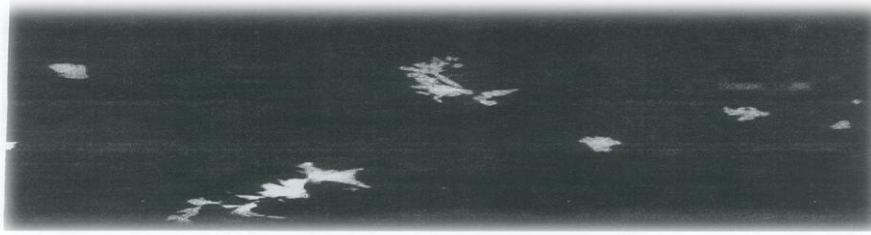


Рисунок 3

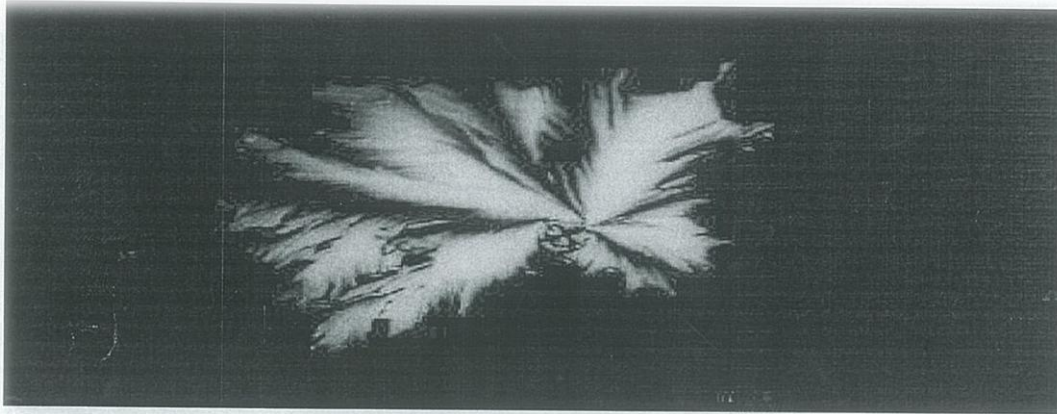


Рисунок 4

Также можно проводить исследования, для диагностики эффективности лечения генитального эндометриоза. После проведенного лечения, проводится повторное структурно-оптическое исследование сыворотки крови, при этом уменьшаются количества текстур в размерах и в количестве, свидетельствует о эффективности проводимой терапии.

Твердокристаллическая фаза – характеризуется, кроме возможного присутствия перечисленных структур, еще дендритными образованиями причудливых форм. Рисунок 2,3,4

Таким образом, проведенный обзор литературы по состоянию вопроса диагностики эндометриоза, позволяет нам заключить, что несмотря на большой опыт применения разнообразных методов исследования, диагностика эндометриоза сложная задача, особенно на ранних стадиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Пикин С.А. Структурные превращения в жидких кристаллах. - М.: 1981. – 336 с.
- 2 Маслов В.А. Биофизические методы исследования в диагностике и лечении острого послеродового мастита // Сб. науч. Работ. – Екатеринбург: 1992. - №3. - С. 28-30.
- 3 Лисиенко В.М., Шурыгина Е.П. Классификация синдромов структурной альтерации биологических жидкостей // Сб. науч. Работ. – Екатеринбург: 1992. - №1. - С. 23-25.
- 4 Пикин С.А. Жидкие кристаллы. - М.: 1982. – 207 с.
- 5 Ахманов С.А., Никитин С.Ю., Физическая оптика. - М.: Из-во Московского университета, 1998. – 656 с.
- 6 Каманина Н.В. Жидкие кристаллы – перспективные материалы оптоэлектроники. Свойства и области применения. Учебное пособие. – СПб.: ЛЭТИ, 2004. – 83 с.
- 7 Керимова Н.Р., Рыбалкина Л.Д., Фунлоэр И.С. Диагностическая и прогностическая значимость структурообразования в крови при ОПГ-гестозе. – Бишкек: 1998. – 213 с.

Р.С. СҚАҚОВА

С.Д. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ. №2 акушерия және гинекология кафедрасы, ҚЖШККА

ГЕНИТАЛДЫ ЭНДОМЕТРИОЗДЫҢ ЛАБОРАТОРИЯЛЫҚ ЗЕРТТЕУ ТӘСІЛДЕРІ

Түйін: Эндометриоз кезінде қанның құрамдық өзгерісін, патологиясын зерттеу липидтік зат алмасудың өзгеруіне көптеген зерттеушілердің деректеріне негізделген, перспективалы болып табылады. Жоғары ықтималдықпен, липидті-ақуыз құрамы туралы белгілі деректер жасуша мембранасының құрылымдық компоненттері эндометриоз құрылым қалыптасуына ықпал етуі мүмкін деп айтуға болады. Сондай-ақ, генитальды эндометриозды емдеу тиімділігін диагностикалау, зерттеулер жүргізу мүмкін. Ем қабылдағанан кейін, қанның екінші құрылымдық-оптикалық зерттеуден кейін құрылымы мен сандық мөлшерінің төмендеуінен жүргізілген терапия тиімділігі туралы куәландырады

Түйінді сөздер: зертхана, қан, диагностика әдісі

R.S. SKAKOVA

KazNMU named after S.D. Asfendiyarov, Emergency Hospital of Almaty

LABORATORY METHODS FOR THE DIAGNOSIS OF GENITAL ENDOMETRIOSIS

Resume: The study of structure of blood with endometriosis, is promising, based on the data of many researchers of a change in lipid metabolism in the study of pathology. With high probability, given the known data on lipid-protein composition of textures in the structure formation can be said that precipitated structural components of cell membranes may contribute to the abnormal structure formation in endometriosis.

You can also conduct research, to diagnose the effectiveness of the treatment of endometriosis. After the treatment, a second structural and optical study of blood serum, thus decreasing the number of textures in size and in an amount indicative of the effectiveness of the therapy.

Keywords: laboratory, blood, diagnostic methods