

ОСОБЕННОСТИ МОРФОСТРУКТУРЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ ИЗ ЛЕГКОГО, ПОРАЖЕННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛЬЮ

Шихлярова А.И., Шейко Е.А., Сергостьянц Г.З., Куркина Т.А.

ФГБУ «Ростовский НИИ Онкологический институт» МЗ России, г. Ростов-на-Дону, 344038, г.Ростов-на-Дону, ул. Погодина 6 Б, кв.38, e-mail: esheiko@inbox.ru

Биологические жидкости играют важную роль в жизнедеятельности организма, выполняя информационную, управленческую и исполнительную функции. Фация отражает молекулярные взаимодействия в сыворотке крови, являясь ее структурным портретом. Фация представляет собой твердотелую пленку, полученную методом клиновидной дегидратации сыворотки крови. В процессе самоорганизации биологических жидкостей специфические структуры данных молекул формируют локальные структуры надмолекулярного уровня, доступные для визуального анализа. Регистрация таких структурных характеристик позволяет осуществлять мониторинг состояния организма. Целью настоящего исследования было проведение морфоструктурного анализа структур надмолекулярного уровня твердых фаз сыворотки крови, взятой из легкого, пораженного опухолью. В результате настоящего исследования был проведен качественный и количественный анализ фаций сыворотки, как из вены, так и из легкого, пораженного опухолью. Результаты показали значительное накопление в сыворотке крови маркеров злокачественного процесса (черный пигмент, цветные вставки, стеклоподобные кристаллы белка) и сопутствующих патологических процессов (жгуты, серповидные структуры, языки Арнольда, ковры Серпинского, структуры листа и т.д.), причем подобные маркеры встречаются чаще и в большем количестве в крови из легкого, пораженного опухолью.

Ключевые слова: фация сыворотки крови, маркеры опухолевого процесса.

MORFOSTRUKTURA'S FEATURES OF SERUM OF BLOOD FROM THE LUNG AFFECTED WITH THE MALIGNANT TUMOUR

Shihlyarova A.I., Sheiko E.A., Sergostyants G.Z., Kurkina T.A.

Rostov Scientific Research Institute of Oncology M.Z. Russia, Rostov-on-Don, 344038 Rostov-on-Don, Pogodina st.6 B ap.38, e-mail: esheiko@inbox.ru

Body fluids play an important role in the life of the organism, performing informational, administrative and executive functions. Facies reflects the molecular interactions in the serum, being its structural portrait. Facies is a solid-state film obtained by the method of wedge dehydration serum. In the process of self-organization in biological fluids specific data structure of the molecules is forming the local structure of the supramolecular level available for visual analysis. Registration of such structural characteristics allows monitoring of the condition of the body. The aim of this study was to conduct the analysis of morphological structures of supramolecular solids level of serum taken from lung tumors affected. As a result of the present study a qualitative and quantitative analysis of a facies serum both from vein and from the lung affected by the tumor were carried out. The results showed a significant accumulation in serum markers of malignancy (black pigment, colored inserts, glassy-like crystals of protein) and markers associated of pathological processes (harnesses, sickle-shaped structures, Arnold tongues, Sierpinski carpets, leaf structure, etc.) and such markers are found more frequently and in greater numbers in the blood from the lung affected by the tumor.

Keywords: facies serum, markers of tumor.

Злокачественные опухоли легких представляют одну из наиболее распространенных форм рака, трудности диагностики и малоудовлетворительные результаты, лечения которых определяют высокую актуальность проблемы [1,2]. Ежегодно в мире регистрируется 1,04 млн новых заболеваний (12,8 % от всех вновь выявленных) и 921 тыс. смертей (17,8 % от общего числа злокачественных новообразований) [1,2]. Более чем у двух третей больных диагностируются III–IV стадии рака легкого (37,7 и 31,6 % соответственно). Поэтому сохраняется необходимость в разработке методов современной диагностики, объективизации

тяжести состояния онкологических больных, оценки динамики опухолевого процесса и проведения контроля за эффективностью лечебных противоопухолевых мероприятий [10].

Известно, что биологические жидкости играют важную роль в жизнедеятельности организма, выполняя информационную, управленческую и исполнительную функции [4, 5]. Биологические жидкости отражают состояние гомеостаза и представляют наиболее удобный для изучения динамики физиологических и патологических процессов организма объект [3, 4, 6, 7, 8, 9, 10]. Полная потеря воды тест-каплей приводит к образованию на поверхности предметного стекла *фациии* (от лат. *faciens* – наружность, форма) – пленки, «тонкого среза высокоподвижной неклеточной ткани, на которой зафиксирован рисунок волнового взаимодействия элементов биологической жидкости» [7]. Таким образом, фация – это структурный макропортрет, отражающий молекулярные взаимоотношения в биологической жидкости, а значит, и протекающие в ней патофизиологические процессы. Элементы фации образуются в соответствии с определенными закономерностями, они коррелятивно связаны с формированием и характером течения патологического процесса и несут в себе важную информацию, имеющую ценность для клинической диагностики. Регистрации структурных характеристик биологических жидкостей позволяют осуществлять мониторинг состояния организма и контролировать изменения, происходящие при различных заболеваниях [3,4]. Ни один другой метод лабораторной диагностики не дает интегральной информации столь значительного объема и качества [7, 8, 9]. В процессе самоорганизации при клиновидной или краевой дегидратации биологических жидкостей специфические структуры данных молекул формируют локальные структуры надмолекулярного уровня, доступные для визуального анализа [7, 8, 9]. Был выявлен ряд локальных морфологических структурированных маркеров, указывающих на определённый патологический процесс [4, 5, 6, 9].

Целью настоящего исследования было проведение морфоструктурного анализа локальных структур надмолекулярного уровня твёрдых фаз сыворотки крови, взятой из легкого, пораженного опухолью.

Материал и методы

Метод клиновидной дегидратации осуществляли следующим образом. Проводили забор крови в сухую чистую пробирку в объеме 5 мл для получения сыворотки. Кровь центрифугировали в течение 30 минут со скоростью 1000 оборотов в минуту. Полученную сыворотку в объеме 10 мкл наносили на специально подготовленное обезжиренное предметное стекло в строго горизонтальном положении. Высушивание производили при постоянной температуре 24° и постоянной влажности 65 %. В процессе высыхания предметное стекло остается неподвижно в строго горизонтальном положении и полном отсутствии движения окружающего воздуха. Оценка структурообразующих элементов

производилась через 24 ч. [8,9]. Микроскопию структур осуществляли с помощью микроскопа LEICADMSL2 с компьютерным обеспечением программы «Морфотест». Морфологические исследования проводили в проходящем свете, темном поле и с помощью поляризационной микроскопии с увеличением $\times 10, \times 20, \times 40, \times 100$. Кровь забирали из локтевой вены и из легкого, пораженного опухолью на момент до начала пневмонэктомии.

Изучена морфологическая картина сыворотки крови от 23 больных раком легких и 10 практически здоровых человек.

Результаты и их обсуждение

При изучении морфологии крови практически здоровых людей и больных раком легкого были установлены основные показатели фации сыворотки крови, а также структуры твердой фазы данной биожидкости, образующихся при накоплении в организме различных патогенных веществ и отнесенных к группе аномальных (патологических) элементов.

Фации сыворотки крови практически здоровых людей характеризовались чёткостью, радиальной симметричностью расположения секторов, отдельностей, конкреций и отсутствием патологических структур (рис.1).



Рис.1. Фация сыворотки крови практически здорового донора. Ув.Х10

При исследовании морфологической картины, как в периферической, так и региональной сыворотки крови, взятой из легкого, пораженного опухолью, нами были выявлены маркеры разнообразных патологических процессов: воспалительных, склеротических, интоксикационных, гипоксических и др. (таблица 1). Встречаемость перечисленных выше маркеров была в среднем выше в фациях сыворотки регионарной крови по сравнению с фациями периферической сыворотки. Так, Языки Арнольда и ковры Серпинского (маркеры воспаления) встречаются в 2,1 чаще, структуры листа (маркеры склерозирования) в 1,7 раз, токсические бляшки (маркеры интоксикации) (Рис. 5) зарегистрированы в 1,8 раз больше, гребешковые структуры (маркер ангиоспазма) в 1,3 раза чаще. Одинаково часто как периферической, так и региональной крови представлены в фациях маркеры гипоксического состояния (жгуты) и кандидоз (мицелий). Серповидные

структуры (маркёры некробиоза) по встречаемости были в 3,9 раз выше в фациях периферической, а двойная фация (маркеры интоксикации и гипоксии) были определены во всех, изученных фациях.

Таблица 1

Частота выявления различных маркеров патологических процессов в сыворотке крови больных раком легкого, %

Маркер фации	Сыворотка периферической крови	Сыворотка региональной крови
Воспалительные процессы (Языки Арнольда, ковы Серпинского)	26±1,3	54±2,1*
Склерозирование (Структуры листа)	47,8±2,4	81,8±3,6*
Эндогенная интоксикация (токсические бляшки, токсические дожди)	26±1,7	45,5±2,1* 50±2,2*
Застойные явления в ткани мозга (наличие трехлучевых трещин в центральной зоне фации)	69,9±4,2	45,5±1,6*
Ангиоспазм (гребешковые структуры)	17,4±0,7	22,7±0,3*
Гипертония (трещины серебра)	нет	18,2±4,4
Острые нарушения мозгового кровообращения (блоковые трещины)	13,0±3,8	13,6±4,5
Некробиотические процессы в мозге (серповидные образования)	17,4±2,1	4,5±0,8*
Гипоксические образования (жгуты)	73,9±11,4	73,9±8,6
Кандидоз (точечный и бобовый мицелий)	78,3±	78,3±

Примечание: * – статистически достоверные отличия ($P \leq 0,5$).

При изучении особенностей морфологической картины сыворотки крови больных раком легкого нас, прежде всего, интересовали маркеры опухолевого процесса. Для характеристики наблюдаемых маркеров опухолевого процесса был использован полуколичественный метод оценки (в баллах), который представлен на примере наиболее часто встречаемых структур патологических элементов при заболеваниях легких [4]:

- 1) наличие в сыворотке крови единичных мелких патологических элементов, без четких контуров оценивалось как слабая степень выраженности (1 балл);
- 2) при наличии 3–4 крупных элементов или 8–10 небольших с четкой конфигурацией, заполняющих 1/2 части фации, оценивалось как умеренная степень выраженности (2 балла);
- 3) наличие значительного количества как крупных, так и мелких патологических элементов с четкими контурами, которые заполняли всю краевую часть фации сыворотки крови, иногда захватывая срединную зону, оценивалось как высокая степень выраженности (3 балла).

На всех макропрепаратах сыворотки независимо от источника взятия крови было обнаружено появление черного пигмента – одного из самых типичных для опухолевого роста структурных признаков. Этот маркер выявлялся в виде отдельных глыбок пигмента, форма и размеры, которых существенно варьировали, или их конгломератов. Глыбки пигмента, как отдельно лежащие, так и в конгломератах, определялись преимущественно в трещинах фации (Рис.2). По интенсивности проявления признака (2 балла) фации сыворотки периферической крови отличались от таковой, полученной из сыворотки крови легкого, пораженного опухолью. Выраженность скоплений черного пигмента в отекающей из пораженного опухолью легкого была оценена в 3 балла и составила 50 % всей выборки. Иными словами, появление в структуре фаций периферической крови черного пигмента способствовало манифестации опухолевого роста, а обогащение пигментом регионарной крови свидетельствовало о непосредственном контакте с опухолью в органе мишени.

Нами были выявлены также образования цветных трубок и вставок, синего, зеленого, желтого и красного цветов, которые располагались одиночно или полями, как в промежуточной, так и краевой зонах фации между трещинами или свободно лежали в секторах (Рис.3). Эти признаки были обнаружены в фациях сыворотки периферической крови в 1 балл, в регионарной крови легкого в 3 балла. Причины появления этих признаков нам не удалось установить точно. Однако мы полагаем, что данное явление могло быть обусловлено появлением в биосреде фракций патологических белков с особыми спектральными параметрами. Не исключено, что образование цветных белковых трубок и вставок связано с нарушениями белкового и углеводного обмена, характерных при опухолевом процессе.

Обращало на себя внимание появление только в структуре фаций сыворотки региональной (из легкого с опухолью) крови стеклоподобных аллотропных форм жидкокристаллических белков различной конфигурации и размеров в 2 балла. Также в этих пробах нами было отмечено появление объемной надмолекулярной структуры, напоминающей по виду не «застекленную», а эластическую фазу жидкого кристалла, который был неравномерно окрашен в темный цвет. Появление такого темного конденсата мы связываем с возможным поступлением в регионарную кровь высокотоксических продуктов из легкого, пораженного опухолью (Рис. 4, Рис.5).

Таким образом, результаты наших исследований показали значительное накопление маркеров злокачественного процесса (черный пигмент, цветные вставки, стеклоподобные кристаллы белка), а также сопутствующих патологических процессов (воспаления, интоксикации, гипоксии, склерозирования, некробиоза, кандидоза), причем в сыворотке

региональной крови подобные маркеры встречаются чаще и в большем количестве, по сравнению с периферической кровью.



Рис.2. Фрагменты фазий сыворотки больных раком легкого. Скопление пигмента в виде конгломерата. Ув. X40



Рис.3. Фрагменты фазий сыворотки больных раком легкого. Цветная свободно лежащая белковая трубка. Ув. X100

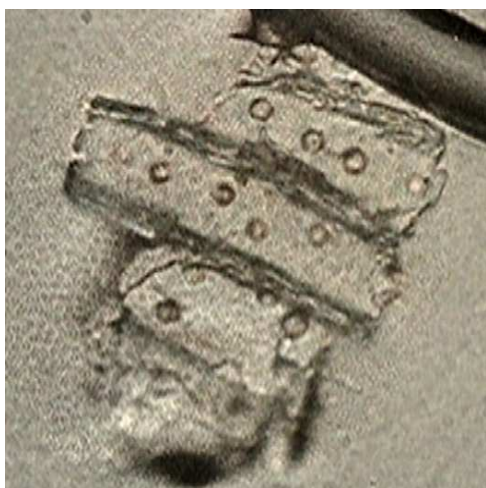


Рис.4. Фрагменты фазий сыворотки больных раком легкого. Проявление аллотропной фазы белка в виде «стекла». Ув. X100



Рис.5. Фрагменты фазий сыворотки больных раком легкого с маркером интоксикации (токсические бляшки). Ув. X10

Заключение

Морфоструктурный анализ твёрдых фаз биологических жидкостей, в частности сыворотки крови, полученных с помощью метода клиновидной дегидратации, представляет собой интенсивно развивающуюся методологию исследования важных процессов организма и открывающую большие возможности для создания диагностических критериев для современных технологий получения информации о состоянии гомеостаза, патофизиологических механизмах при опухолевом процессе, а эффективности проводимой терапии на молекулярном уровне. В результате применения метода уже через 18–24 часов можно дать оценку эффективности противоопухолевой терапии и провести ее коррекцию.

Список литературы

1. Аксель Е.М. Заболеваемость и смертность от рака легкого в России // Новое в терапии рака легкого (терапия рака легкого начала XXI века) / под ред. Переводчиковой Н.И. – М., 2003. – С. 8–15.
2. Барчук А.А., Арсеньев А.И., Левченко В. Скрининг рака легкого // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55, № 1. – С.7-15.
3. Гребенников А.С., Бузоверя М.Э., Шишпор И.В. и др. Разработка не инвазивного способа диагностики эндогенной интоксикации // Мат. межд. конф. «Процессы самоорганизации в высыхающих каплях». – Астрахань: Изд. Астр. гос. ун-та, 2010. – С.162-171.
4. Максимов С.А. Морфология твердой фазы биологический жидкостей как метод диагностики в медицине // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. – № 4. – С.80-85.
5. Потехина Ю.П. Отражение патологических процессов в морфологии биожидкостей. – М.: Lambert, 2001. – 172с.
6. Рыжова О.А., Стрельцов Е.Н., Аюкова А.К. Структурный анализ сыворотки крови при туберкулезе: монография. – Изд. Астраханского университета, 2010. – 82 с.
7. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. – М.: Хризостом, 2001. – 303с.
8. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей в клинической лабораторной диагностике // Клиническая лаб. диагност. – 2002. – №3. – С.25-32.
9. Шатохина С.Н., Шаболин В.Н. Маркеры злокачественного роста в морфологии биологических жидкостей человека // Вопросы онкологии. – 2010. – Т. 56, № 3. – С.293-300.
10. Шихлярова А.И., Шейко Е.А., Козель Ю.Ю., Куркина Т.А. Прогностические возможности метода клиновидной дегидратации при оценке эффективности лечения детей с гемангиомами светодиодным излучением красного спектра // Лазерная медицина. – 2013. – Т.17, в.2. – С.27-32.

Рецензенты:

Каймакчи О.Ю., д.м.н., ассистент кафедры онкологии ГОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону;
Горошинская И.А., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории «Патогенеза опухолей» ФГБУ «Ростовский научно -исследовательский онкологический институт» МЗ России, г. Ростов-на-Дону.