

ХРОНИЧЕСКИЙ ГАСТРИТ И РАК ЖЕЛУДКА – НОВЫЙ МЕТОД СКРИНИНГОВОЙ ДИАГНОСТИКИ

О.П. Алексеева, С.В. Криштопенко, С.В. Насонов, Федеральный гастроэнтерологический центр Приволжского федерального округа при Нижегородской областной клинической больнице им. Н.А. Семашко

Алексеева Ольга Поликарповна, д. м. н., профессор, кафедра внутренних болезней Военно-медицинского института ФСБ России при НижГМА – раб. тел.: (831) 438-93-52, e-mail: al_or@mail.ru

Обследованы 62 больных с эндоскопически и морфологически верифицированным диагнозом хронического гастрита, 89 больных с морфологически верифицированным диагнозом рака желудка и 43 здоровых лица в возрасте от 23 до 54 лет. Изучена возможность использования высокоэффективной жидкостной хроматографии сыворотки крови для диагностики и дифференциальной диагностики хронического гастрита и рака желудка. Высушенный экстракт сыворотки крови подвергся исследованию на хроматографе «Миличром А-02» (ЗАО «Эконова», г. Новосибирск). Обработка хроматограмм производилась при помощи многомерного кластерного анализа с формированием трехмерного образа патологического состояния, достоверно отличающегося от образа здорового человека. Чувствительность диагностики хронического гастрита и рака желудка составила 92% и 96% соответственно. Диагностическая точность метода составила 94%.

Ключевые слова: хронический гастрит, рак желудка, сыворотка крови, жидкостная хроматография.

62 patients with the endoscopically and morphologically verified diagnosis of the chronic gastritis, 89 patients with the morphologically verified diagnosis cancer of gaster and 43 healthy humans at the age of 23-54 years are examined. A possibility of a blood serum highly effective fluid chromatography use for the disease diagnosis is studied. A blood serum dried extract was investigated on the "Milichrome A 02" chromatograph (Novosibirsk, the "Econova" joint-stock company). The chromatograms were treated with a use of a multi-level cluster analysis with a pathologic state three-measured form, trustworthy differing from a healthy human image. A diagnostic sensitivity and accuracy of the method was achieving up to 96% and 94%.

Key words: cronical gastritis, Cancer of the stomach, blood serum, fluid chromatography.

Введение. Хронический атрофический гастрит, с позиции современной медицины, большинством авторов рассматривается как заболевание, имеющее высокий риск развития рака желудка и требующее динамического наблюдения с проведением фиброгастродуоденоскопии с биопсией и морфологической верификацией диагноза. Это дорогостоящие и обременительные для пациента методы диагностики, которые нельзя отнести к скрининговым [1].

Статистические данные свидетельствуют о том, что распространенность хронического гастрита (ХГ) и рака желудка (РЖ) в России не имеет тенденции к снижению. При этом рак желудка диагностируется, как правило, в далеко зашедшей стадии заболевания. Результаты лечения неутешительны. В структуре смертности от онкозаболеваний рак желудка у мужчин занимает второе место, а у женщин – первое [2]. Ранняя диагностика атрофического хеликобактерного гастрита с проведением эрадикационной терапии позволяет значительно снизить риск развития рака

желудка и значительно улучшить прогноз у этой категории пациентов [3].

Перечисленные факторы определили необходимость поиска новых объективных способов ранней диагностики хронического гастрита и раннего рака желудка. Наиболее перспективным, с нашей точки зрения, является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Он удачно сочетает в себе высокую точность качественного и количественного анализа веществ, высокую автоматизацию, для исследования необходимы микроколичества анализируемого образца. Метод позволяет оптимальным образом получить информацию о биохимических процессах в организме [4].

Цель и задачи исследования

Цель исследования: изучить возможности метода высокоэффективной жидкостной хроматографии сыворотки крови для диагностики и дифференциальной диагностики хронического гастрита и рака желудка.

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. установить возможности высокоэффективной жидкостной хроматографии сыворотки крови в диагностике и дифференциальной диагностике хронического гастрита и рака желудка;

2. найти комплексы информативных (характеристических) соотношений хроматографических пиков сыворотки крови, определяющие дифференциально-диагностические образы хронического гастрита и рака желудка на основе сопоставления с безусловно верифицированными окончательно установленными клиническими диагнозами в зависимости от пола и возраста;

3. разработать эффективные методы обработки данных хроматограмм сыворотки крови, обеспечивающие наибольшую точность при диагностике хронического гастрита и рака желудка.

Материалы и методы

Всего были обследованы 194 человека. Обследование больных проводилось на базе медицинских учреждений Нижнего Новгорода: поликлиники городского онкологического диспансера, больницы № 13 и областной клинической больницы им. И.А. Семашко. Были сформированы 3 группы: группа больных хроническим гастритом, группа больных раком желудка и контрольная группа. В каждой группе проводилось разделение на обучающую и экспертную выборки.

В контрольную группу вошли 43 практически здоровых добровольца, не имеющих патологии желудка в возрасте от 23 до 54 лет. Группа больных хроническим гастритом состояла из 62 человек. Группа больных раком желудка состояла из 89 человек. Во всех группах проводилось разделение по возрасту (до 55 лет и старше) и полу.

Все больные с патологией желудка проходили клинико-лабораторное, рентгенологическое и эндоскопическое обследование. Анализ клинической картины хронического гастрита и рака желудка не позволял разграничить эти два заболевания. Более чем у половины больных (ХГ – 56,4%, РЖ – 58,2%) заболевание протекало бессимптомно. По частоте и выраженности болевого абдоминального синдрома и синдрома диспепсии также не удалось найти различий между этими двумя заболеваниями. Лабораторные данные при ХГ и РЖ также не отличались высокой специфичностью. Некоторой «чувствительностью» отличался лишь показатель СОЭ при 3-4-ой стадии РЖ.

Критерием включения в исследование являлась обязательная гистологическая верификация диагноза. В группе больных с ХГ преобладал атрофический хеликобактерный гастрит (30 человек из 62). В группе больных с РЖ преобладали аденокарциномы различной степени дифференцировки (67 случаев из 89). В этой же группе отмечалось преобладание больных с поздними стадиями процесса (1-2-я стадия – 16 человек, 3-4-я стадия – 73 человека). Из исследования исключались больные с сопутствующим хроническим заболеванием в стадии декомпенсации. Диагнозы формулировались в соответствии с международной (Сиднейской) классификацией гастритов [5], у больных раком желудка диагнозы формулировались в соответствии с крите-

риями ВОЗ по системе TNM и по стадиям заболевания на основании классификации Минздрава СССР.

В качестве исследуемого субстрата была использована сыворотка крови. Забор крови проводился натощак из вены в количестве 5-10 мл. Полученная сыворотка (не менее 2 мл) высушивалась при 25°C до состояния сухой корочки и перемалывалась до состояния гомогенного порошка. Далее бралась навеска порошкообразной сыворотки в количестве 40 мг и проводилась экстракция 85% метанолом – 200 мкл в течение 45 минут. После центрифугирования смеси при ускорении 12 G проводился отбор надосадочной жидкости. Полученный экстракт сыворотки подвергался хроматографическому исследованию. При анализе использовалась стандартная методика исследования на хроматографе «Милихром А-02» (ЗАО «Эконова», г. Новосибирск) [6].

Хроматограммы подвергались математической обработке с идентификацией наиболее значимых пиков и вычислением их площадей. Всем пикам было дано алфавитно-цифровое обозначение. Для анализа хроматограмм и оптимизации выделения наиболее значимых пиков использовался специальный программный пакет статистического анализа DiaStat [7], основанный на алгоритмах многомерного энтропийного анализа. Типичная хроматограмма сыворотки крови здорового человека представлена на рис 1.

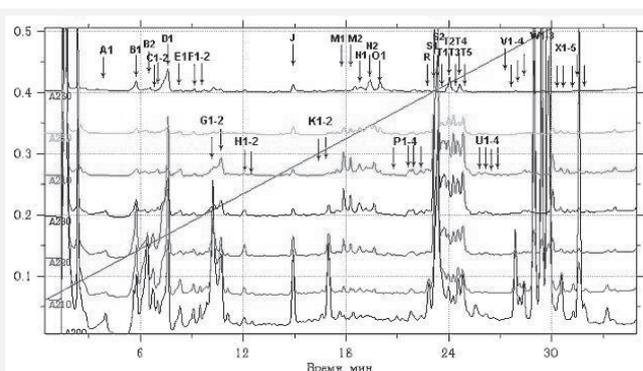


РИС. 1.
Типичная хроматограмма сыворотки здорового человека. УФ детектирование в полосах: 200, 210, 220, 230, 240, 250 и 280 нм. Стрелками указано месторасположение на временной оси наиболее значимых пиков с указанием их алфавитно-цифрового обозначения.

Для каждого пика вычислялись соотношения его площади к площадям других пиков. Полученные отношения являлись параметрами, подлежащими статистической обработке. УФ детектирование велось в полосах: 200, 210, 220, 230, 240, 250 и 280 нм.

Результаты

После многовариантных расчетов ВЭЖХ-параметров и в результате сравнения их с безусловно верифицированными достоверными окончательными диагнозами соответствующих хроматограмм были получены диагностические ВЭЖХ критерии в виде трехмерных областей в ортогональной системе координат (X, Y, Z) для больных раком желудка, хроническим гастритом и контрольной группы. Для статистической оценки полученных распределений ВЭЖХ-параметров в образах болезней использовались методы многомер-

ного дискриминантного анализа статистической диалоговой системы STADIA 4.52 (копия 1102).

На основании сформированного эталонного трехмерного дифференциально-диагностического образа проводилась диагностика и дифференциальная диагностика в экспертных группах. Пример эталонного образа приведен на рис. 2.

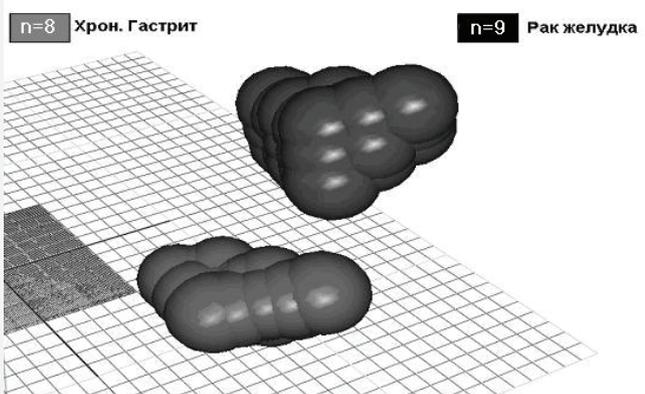


РИС. 2.
Эталонные ВЭЖХ-спектрометрические образы рака желудка (9 наблюдений) и хронического гастрита (8 наблюдений) в возрастной группе до 55 лет у женщин. Координаты по осям:
 $X = S(W_{1200nm})/S(R_{1200nm})$, $Y = S(W_{2200nm})/S(R_{1200nm})$,
 $Z = S(X_{4200nm})/S(W_{4240nm})$. **Достигнуто разделение в 100% случаев для доверительной вероятности 99% ($P < 0,01$).**
Критерий Хи-квадрат = 40,06.

Итоговые результаты следующие: общая чувствительность диагностики рака желудка равняется 92%, при средней специфичности, равной 93%. Общая чувствительность диагностики хронического гастрита равняется 96%, при средней специфичности, равной 93%. Средняя диагностическая точность при дифференциальной диагностике хронического гастрита и рака желудка составила 94%.

Величина критерия Хи-квадрат во всех случаях больше табличной величины, равной 7,81, для доверительной вероятности не менее 95% позволяет распространить полученный результат на генеральную совокупность с погрешностью не более 5%.

Обсуждение

Проводя обсуждение результатов исследования необходимо подчеркнуть, что сыворотка крови, несмотря на то, что является очень сложной по своему составу, подчинена единым физико-химическим принципам строения и функционирования биологических жидкостей. При дегидратации молекулы и молекулярные комплексы претерпевают пространственные перемещения и локализуются в строго определенном месте в форме фиксированной волны по ВЭЖХ. При этом каждая волна соответствует градиенту концентрации определенной группы ассоциированных молекул, близких по своей физико-химической структуре. В сыворотке крови подавляющее большинство молекул находится в виде надмолекулярных комплексов.

Организационная аутоволновая структура дегидрированной сыворотки отражает спектр этих комплексов на хроматограмме. Фазовый переход биологической жидкости из неупорядоченного жидкого состояния в твердое путем высушивания организует определенный стохастический порядок, который становится наблюдаемым даже на макроскопическом уровне. Волновые ритмы различного характера и качества являются одной из форм самоорганизации живой материи и ее взаимосвязи как с внутренней, так и с внешней средой.

При любом заболевании наблюдаются изменения в биосинтезе белков, нуклеиновых кислот, полипептидов и других соединений, которые поступают в кровь и могут быть обнаружены. Почти все зарегистрированные на хроматограмме пики являются олигопептидами, пептидами или низкомолекулярными белками. На этом основании существует вполне реальная возможность использования метода ВЭЖХ для лабораторной диагностики хронического гастрита и рака желудка.

Выводы

1. Метод ВЭЖХ сыворотки крови пригоден для высокочувствительной и высокоспецифичной диагностики и высокоточной дифференциальной диагностики хронического гастрита и рака желудка для всех стадий заболевания. Метод может быть использован как скрининговый.

2. Характер комплексов информативных соотношений пиков хроматограмм сыворотки крови у больных раком желудка и хроническим гастритом имеет значительные отличия в двух возрастных группах (до 55 лет и старше), как у мужчин, так и у женщин.

3. Разработанный пакет программ статистического анализа DiaStat обеспечил эффективный анализ хроматограмм, а выбранные методы статистического анализа оказались оптимальными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. М.: Триада-Х, 1998. 496 с.
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2006 году / Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: ФГУ МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологии, 2007. 180 с.
3. Maastricht-3 Guidelines for Helicobacter pylori infection. 13. United European Gastroenterology Week. Copenhagen, 2005.
4. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии: Пер. с англ. / Под ред. А. Хеншен и др. М.: Мир, 1988. 688 с.
5. Аруин Л.И. Новая международная морфологическая классификация хронического гастрита (модификация Сиднейской системы) // Архив патологии. 1997. № 3. С. 3-6.
6. Барам Г.И. Высокоэффективная микроколонная обращенно-фазовая хроматография пептидов // Тез. докл. IV Всесоюз. Симпоз. По молек. жидк. хроматографии в Алма-Ате. Черногловка. 1987. С. 263-265.
7. Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2007611453 Программа для обработки спектров и создания экспертных диагностических систем DiaStat / Насонов С.В., Игнатьев А.А., Казаковцев А.В., Чельшев И.В.