

ИНФРАКРАСНАЯ ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

Л.В. Боровкова, Д.В. Першин, А.А. Игнатьев, кафедра акушерства и гинекологии ЦПК и ППС,
ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия», ООО «Медицинская диагностика»

Проведено спектрометрическое исследование сыворотки крови у женщин с доброкачественными и злокачественными заболеваниями женских половых органов, идущих на хирургическое лечение с гистологически верифицированным диагнозом. Аналогичное исследование проведено у женщин с отсутствием гинекологической патологии. В проведенном исследовании показана высокая диагностическая точность и специфичность инфракрасной Фурье-спектрометрии как скринингового метода для диагностики доброкачественных и злокачественных заболеваний женских половых органов.

There has been carried out a research of blood serum of women with benign and malignant diseases of female breeding organs who go to surgical treatment with histologically verified diagnosis. The same research has been made of women without gynecological pathology. The results of the research show high diagnostic accuracy and peculiarity of infrared Fourier spectrometry as a screening method for diagnosis of benign and malignant diseases of female breeding organs.

Введение. Ежегодно в мире регистрируется более 850 000 случаев злокачественных опухолей женских половых органов. В России в 2004 г. число вновь выявленных злокачественных новообразований этой локализации составило 51 600 случаев (17% всех злокачественных опухолей).

В 2004 г. в России зарегистрировано 12 700 наблюдений рака шейки матки, что составило 5% всех злокачественных новообразований, и 31% злокачественных образований женских половых органов. Средний возраст заболевших составил 53 года. От рака шейки матки ежегодно в нашей стране умирают более 6000 больных.

В стране каждый год регистрируется более 16 700 больных раком тела матки. В структуре заболеваемости рак тела матки занимает 4-е место (6%). Средний возраст больных – 53 года.

В России ежегодно регистрируется 12 100 злокачественных новообразований яичников и 7800 смертей от них. Злокачественные опухоли яичников встречаются у женщин всех возрастных групп, начиная с младенчества. В 2004 г. в России от рака яичников умерли 7400 больных (5,7% женщин, больных злокачественными новообразованиями). В структуре умерших от злокачественных новообразований рак яичников стоит на 5-ом месте.

В связи с этим, представляет особую актуальность поиск диагностических критериев в ранней диагностике доброкачественных и злокачественных новообразований половых органов у женщин. Несмотря на внедрение в широкую практику таких методов, как ультразвуковое исследование органов малого таза, рентген-контрастная томография, магнитно-резонансная томография, лапароскопия, гистероскопия, онкологические заболевания репродуктивной сферы женского населения диагностируются в основном на поздних стадиях своего развития.

Скрининговым методом для диагностики рака шейки матки в настоящее время является цитологическое исследование шейки матки. Диагностическая ценность метода определяется во многом техникой забора материала для исследования. Взятие мазка на онкоцитологию проводится с помощью специального шпателя Эйра или специальной цервикальной щеточкой, что дает возможность получить поверхностный соскоб со всей поверхности экто- и эндоцервикса. Материал брать желательно до проведения различных проб, до влагалищного исследования, без предварительного высушивания шейки матки. Результат цитологического исследования обычно классифицируется по 5-балльной системе по Papanicolau (1943):

1. отсутствие атипических клеток;
2. атипические клетки без признаков злокачественности;
3. подозрение на рак;
4. некоторые признаки рака;
5. рак.

Точность цитологической диагностики не превышает 50%, сравнительно невысокая частота ложноотрицательных заключений делает этот метод незаменимым при массовых обследованиях. Вместе с тем отмечаются значительные расхождения цитологических и гистологических данных при дисплазии и преинвазивном раке. Цитологический метод предшествует кольпоскопии и биопсии шейки матки.

Основоположником кольпоскопии является Hinselmann (1928). Детальный обзор слизистой оболочки шейки матки под 15-кратным увеличением позволяет с высокой степенью достоверности дифференцировать доброкачественные изменения от раковых. Вместе с тем весьма многообразным кольпоскопическим картинам не всегда соответствуют строго определенные гистологические заключения. Так, в зоне превращения эктопии и в основе лейкоплакии может наблюдаться

широкая гамма гистологических изменений – от метаплазии до инвазивного рака. Иными словами, между кольпоскопическими картинами и степенью тяжести CIN (цервикальной интраэпителиальной неоплазии).

Для скрининговой диагностики рака тела матки на I этапе в связи с высокой информативностью и простотой применяется цитологическое исследование аспирата эндометрия. При атипической гиперплазии эндометрия совпадение цитологического и гистологического диагноза наблюдается в 88,6% случаев, при раке эндометрия – в 90,8% случаев. Чувствительность цитологического метода при раке эндометрия – 92,1%, специфичность – 99%.

Гистологическое исследование соскоба эндометрия устанавливает характер морфологической структуры опухоли и является более достоверным методом диагностики, чем цитологический, но примерно в 10% случаев морфологическое заключение может быть ошибочным. Диагностическая ценность метода повышается при проведении его под контролем гистероскопии.

Ультразвуковая диагностика рака эндометрия остается сложной, существуют различные мнения в отношении получения достоверности диагноза. При злокачественном поражении эндометрия увеличивается толщина слизистой оболочки до 20 мм и более, а также имеют место участки истончения эндометрия до 10 мм и менее. Контур слизистой оболочки становятся неровными, нечеткими. По данным литературы точность ультразвуковой диагностики при раке эндометрия составляет 70%.

О ранней диагностике злокачественных опухолей яичников дискутируют много лет, подчеркивая трудности раннего выявления. Опухолевые маркеры в сыворотке крови позволяют регистрировать опухоль массой до 1 мг. Данный метод можно использовать для:

1. подтверждения или исключения злокачественного новообразования при обследовании пациента с подозрением на рак, причем только в сочетании с другими методами диагностики;
2. прогнозирования течения болезни, рецидивов;
3. мониторинга лечения;
4. идентификации групп повышенного онкологического риска.

Для диагностики и мониторинга чаще используются 2 антигена: ассоциированный с карциномой яичника (CA125) и ассоциированный с серозной цистаденокарциномой яичника (OCA4). Наиболее чувствительным онкомаркером для диагностики новообразований внутренних женских половых органов является онкомаркер, ассоциированный с карциномой яичника (CA 125). Уровень CA125 повышен в 83% случаев рака яичников и колеблется от 116 до 1200 МЕ/мл (у здоровых до 35 МЕ/мл). Степень повышения концентрации CA125 не адекватна объему первичной опухоли, но хорошо отражает наличие отдаленных метастазов даже при маленькой первичной опухоли.

Ультразвуковое исследование малого таза с доплерографическим исследованием наряду с определением онкомаркеров является методом скрининговой диагностики опухолей яичников. Однако, результаты ультразвуковой диагностики рака яичников остаются противоречивыми. Обычно описывают четыре ультразвуковых признака рака яичников: нечеткость контуров, смешанное внутреннее строение, наличие перегородок и уплотнений, асцит. Совпадение ультразвукового и гистологического диагноза при раке яичников наблюдается в 85% случаев.

Цель исследования. Определить специфичность и чувствительность инфракрасной (ИК) Фурье-спектрометрии сыворотки крови в диагностике доброкачественных и злокачественных новообразований женских половых органов.

Материалы и методы. Проведено спектрометрическое исследование сыворотки крови у 224 больных с доброкачественными и злокачественными новообразованиями женских половых органов, идущих на хирургическое вмешательство с гистологически верифицированным диагнозом. Группу контроля составили 50 пациенток с отсутствием каких-либо гинекологических заболеваний. Причем в контрольной группе у женщин репродуктивного возраста исследование сыворотки крови проводилось в раннюю фолликулиновую фазу менструального цикла (на 5-6-ой день цикла) и в фазу расцвета желтого тела (22-24-ый день цикла). Исследуемые группы пациентов представлены в таблице.

ТАБЛИЦА. Распределение пациенток, обследованных методом инфракрасной Фурье-спектрометрии, в зависимости от возраста и нозологической формы заболевания

	Контрольная группа n=50	Доброкачественные опухоли n=100			Злокачественные опухоли n=124		
		Миома матки n=12	Эндометриоз n=14	Истинные доброкачественные опухоли яичников n=74	Рак тела матки n=88	Рак шейки матки n=10	Рак яичника n=26
На 5-6 день цикла	43	10	14	55	18	5	11
На 22-24 день цикла	43						
В постменопаузе	7			19	70	5	15

Инфракрасная Фурье-спектрометрия сыворотки крови представляет собой изучение колебательных движений молекул в частотном диапазоне в области $400 - 7800 \text{ см}^{-1}$ с определением высоты пиков полос поглощения с максимумами 1320, 1308, 1271, 1241, 1200, 1177, 1169, 1158, 1136, 1117, 1100, 1080, 1035, 982, 973, 943, 935, 891, с вычислением характерных комплексов пиков. Эти частоты и составляют инфракрасный спектр. ИК-свет имеет тот же частотный диапазон, что и колебательно-вращательный спектр молекул. Поэтому, при попадании ИК-излучения на молекулу, она поглощает излучение соответствующей частоты этого света, которое совпадает с частотами

собственных гармонических колебаний молекулы. После поглощения этого света молекулярные осцилляторы будут продолжать колебаться на тех же частотах, но амплитуда их колебаний увеличится. Оставшийся свет, который не поглотится ни одним из осцилляторов молекулы, проходит через образец на детектор. Компьютер анализирует прошедший свет и определяет, какие частоты поглощены.

Существуют табличные спектральные данные для тысяч органических веществ, которые могут быть использованы как эталоны для идентификации нужных соединений в любых смесях веществ, например, в крови. В процессе исследований был создан банк фоновых значений колебательного спектра при различных патологических состояниях. Любые отклонения от фона в каждом случае здоровья или патологии легко фиксируются и количественно характеризуются. В результате суммарное математическое выражение ИК спектра крови пациента превращается в одну точку в 2, 3 или n-мерном пространстве. При попадании этой точки в графически выраженную группу здоровья и регистрации ее в виде многогранника (разработки выполнены с помощью компьютерной программы DS924), делается вывод о том, что болезнь отсутствует. При вхождении показателя пациента в плоский или пространственный «образ болезни» делается вывод о патологическом состоянии и степени его тяжести [1].

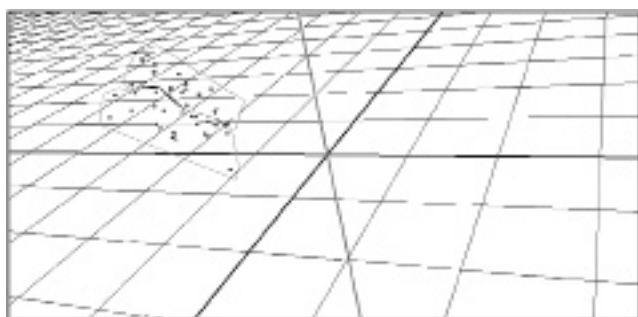


РИС. 1. Отсутствию гинекологической патологии (контрольная группа) соответствует светло-зеленый многогранник (1), доброкачественным новообразованиям женских половых органов – голубой (2).

Метод ИК спектроскопии позволяет выявлять не только различные заболевания, но и наблюдать динамику развития и процесс выздоровления. При неоднократном заборе крови могут быть построены графики, иллюстрирующие те или иные изменения в организме.

Нами производилось взятие 8 мл венозной крови утром натощак в стерильную пробирку. После чего данный материал отстаивался в течение 3 часов с последующим забором сыворотки в стерильную чашку Петри. Сыворотка высушивалась в течение 24 часов и доставлялась в лабораторию, где производилось её размельчение, приготовление суспензии в вазелиновом масле и регистрация частотных характеристик взаимодействия материала образца с электромагнитным полем.

Следует отметить, что среди пациенток со злокачественными опухолями женских половых органов в основном преобладали женщины с 1-2-ой стадиями заболевания.

Результаты и обсуждение. Предлагаемым способом была проведена диагностика 224 больных, из них злокачественные новообразования яичников выявлены у 26 женщин, злокачественные новообразования тела матки – у 88 женщин, злокачественные новообразования шейки матки – у 10 женщин, миома матки – у 12 женщин, истинные доброкачественные опухоли яичников – у 74 женщин, эндометриоз различной локализации – у 14 женщин; а также диагностика 50 женщин разных возрастных категорий с отсутствием гинекологической патологии.



РИС. 2. Отсутствие гинекологической патологии – многогранник светло-зеленого цвета (1), при раке тела матки – темно-зеленого (2).

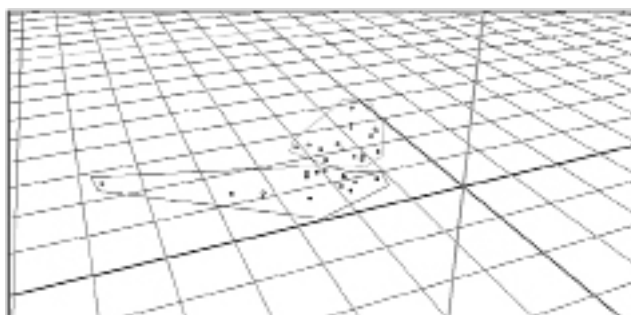


РИС. 3. Отсутствию гинекологической патологии соответствует многогранник светло-зеленого цвета (1), раку яичников – коричневый (2).

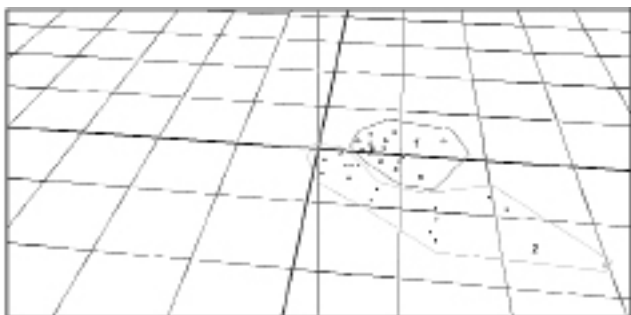


РИС. 4. Зеленый многогранник (1) – отсутствие гинекологической патологии, желтый (2) – рак шейки матки.

Среди пациенток со злокачественными опухолями яичников у 8 женщин (30,7%) была выставлена I стадия заболевания,

у 10 пациенток (38,4%) – II стадия заболевания, у 5 пациенток (19,2%) – III стадия заболевания, у 3 пациенток (11,5%) – IV стадия заболевания.

Пациентки с раком тела матки распределились по стадии заболевания следующим образом: 51 пациентка (57,9%) – I стадия, 28 пациенток (31,8%) – II стадия, 7 пациенток (7,9%) – III стадия, 2 пациентки (2,27%) – IV стадия заболевания.

При раке шейки матки I стадия заболевания была диагностирована у 2 (20%) пациенток, II стадия у 5 (50%) пациенток, III стадия у 2 (20%) пациенток, IV стадия заболевания у 1 (10%) пациентки.

В ходе исследования нами установлено, что контрольная группа характеризуется следующим комплексом пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами: 1308, 1241, 1200, 1177, 1136, 1117, 1080, 973, 943, 935 см⁻¹.

Так же, нами впервые выявлено отсутствие зависимости пиков полос поглощения от фазы менструального цикла и состояния репродуктивной функции женщины, то есть гормональные изменения не оказывают влияния на результаты исследований.

При наличии доброкачественных новообразований (фибромиома, эндометриоз, истинные доброкачественные опухоли яичников) установлены следующие характеристические комплексы пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами: 1320, 1241, 1200, 1169, 1117, 982, 973, 943, 935 см⁻¹ (рис. 1).

У пациенток со злокачественными новообразованиями (рак шейки матки, яичников, тела матки) комплексы пиков полос поглощения распределились следующим образом: для рака шейки матки характерен следующий комплекс пиков полос поглощения – 1200, 1169, 1117, 1035, 982, 891 см⁻¹, для рака яич-

ников – 1320, 1271, 1169, 1158, 1117, 1080, 943, 935 см⁻¹ и для рака эндометрия – 1320, 1241, 1177, 982, 973, 891 см⁻¹ соответственно (рис. 2, 3, 4).

Кроме того, нами установлены достоверные различия в комплексах пиков полос поглощения образца сыворотки крови при доброкачественных и злокачественных новообразованиях.

Следует отметить, что достоверные отличия спектрометрии появляются уже на ранних стадиях злокачественных новообразований, что позволяет использовать спектрометрию сыворотки крови как метод дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований.

Выводы и заключение. Нами установлено, что диагностическая точность ИК Фурье-спектрометрии составила 80%, чувствительность – 88%. Таким образом, спектральный анализ сыворотки крови может использоваться в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных новообразований женских половых органов как скрининговый метод и рекомендован для широкого использования в клинической гинекологической практике.



ЛИТЕРАТУРА

1. Патент РФ «Способ дифференциальной диагностики злокачественных новообразований и соматических незлокачественных заболеваний». № 2232391 от 10.07.2004.
2. Панченков А.Н. Энтропия. Н. Новгород: Интелсервис, 1999. 592 с.
3. Панченков А.Н. Энтропия-2. Н. Новгород: Интелсервис, 2002. 713 с.
4. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под редакцией проф. Н.Тица. М.: Лабинформ; 1997; 960 с.
5. Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы). Под редакцией проф. А.И. Карпищенко. С.-Петербург: Интермедика; 2001; 544 с.
6. Черенков В.Г. Клиническая онкология: Руководство для студентов и врачей. М.: ВУНМЦ МЗ РФ, 1999. 384 с.
7. Серов В.Н., Кудрявцева Л.И. Доброкачественные опухоли и опухолевидные образования яичников. М.: Триада-Х, 1999. 152 с.