

УДК: 616.7-006.33/.34:616.15-073.584

ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ КОСТЕЙ

© 2015 С.В. Козлов, А.Н. Николаенко, В.В. Иванов

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 28.03.2015

Работа посвящена новому комплексному подходу к дифференциальной диагностике опухолей костей. В ней рассмотрена возможность применения современного физико-химического метода – инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в дополнении к существующим инструментальным исследованиям с целью уменьшения доли ложно-положительных и ложно-отрицательных результатов диагностики. Применение нового метода в поликлинике с целью предварительной дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей костей позволило снизить долю ложно-положительных результатов за счет повышения специфичности с 81,3% до 84,8%; долю ложно-отрицательных результатов за счет повышения чувствительности с 79,6% до 89,1% ($p=0,006$). Это позволило оптимизировать показания для выполнения открытой биопсии опухоли.

Ключевые слова: сыворотка крови, инфракрасная спектроскопия, опухоль, кости

Первичные новообразования скелета достаточно редки и составляют 1,5-2% от всех встречающихся опухолей человека. По литературным данным заболеваемость первичными опухолями костей в среднем составляют у мужчин 1, а у женщин 0,6-0,7 на 100 000 населения [1]. Статистические данные последних лет свидетельствуют о неуклонном интенсивном росте заболеваемости и смертности при злокачественных новообразованиях костей [2]. Чаще всего опухоли костей поражают детей и лиц молодого возраста, то есть самый социально весомый и значимый контингент населения [3]. Опухоли костей являются одним из труднейших разделов патологии, как с точки зрения своевременной и правильной диагностики, так и в свете поиска эффективных методов рационального лечения [4]. При подозрении на опухолевую патологию необходим весь комплекс обследований в специализированном учреждении. Одной из наиболее важных проблем онкологической ортопедии является раннее выявление опухолей костей, а также дифференциальная диагностика доброкачественных и злокачественных поражений, так как от своевременности и правильности распознавания патологии зависит выбор оптимального метода лечения [5].

Дифференциальная диагностика опухолей костей скелета сложна и неоднозначна, имеет свои методологические особенности. Следует подчеркнуть, что эти особенности принципиально отличаются от методов диагностики опухолей других локализаций. Несоблюдение единого методологического подхода к дифференциальной диагностике опухолей костей ведет к ложно-положительному или ложно-отрицательному результату, как следствие, ошибка в диагностике отражается на лечении конкретного больного и приводит к нерадикальной терапии, способствующей рецидивированию и метастазированию, которые могут завершаться генерализацией процесса, либо к неоправданно радикальному, калечащему лечению [6, 7].

Таким образом, несмотря на наличие огромного количества литературы, современных инструментальных методов, до сих пор возникают затруднения в диагностике нозологических форм опухолей костей, в связи с чем пациенты поступают на лечение на поздних стадиях заболевания. Связано это с отсутствием патогномичных клинических и рентгенологических проявлений на ранних стадиях заболевания, разнообразием клинических, рентгенологических и морфологических проявлений, существованием атипичных форм. Проявления доброкачественных и злокачественных опухолей, в том числе рентгенологические, могут быть сходными, причем не исключается развитие злокачественных новообразований из доброкачественных [8, 9].

Козлов Сергей Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии. E-mail: KozlovSV@samaraonko.ru

Николаенко Андрей Николаевич, аспирант

Иванов Виктор Вячеславович, ассистент кафедры травматологии, ортопедии и экстремальной хирургии. E-mail: viktor_travm@bk.ru

Цель исследования: улучшить результаты дифференциальной диагностики опухолей костей с помощью инфракрасной (ИК) спектроскопии сыворотки крови

Материалы и методы. Данное клиническое исследование было проведено в период с 2011 по 2013 гг. на базе клинко-диагностического отделения и отделения общей онкологии Самарского областного клинического онкологического диспансера (СОКОД). Исследование базируется на обследовании 180 пациентов, которые были разделены на две группы. Первую группу (сравнения) составили 92 пациента, которым в клинко-диагностическом отделении был выполнен классический комплекс инструментальных обследований при подозрении на опухоль кости: рентгенография, компьютерная томография, сцинтиграфия. С целью определения диагностической ценности постановки предварительного диагноза доброкачественной или злокачественной опухоли кости с помощью классического комплекса обследований в группе сравнения был проведен ретроспективный анализ по архивным историям болезней за 2011 г. Критериями оценки предварительной дифференциальной диагностики на этапе клинко-диагностического отделения СОКОД послужили: чувствительность, специфичность, точность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результата.

В основную группу вошли 88 пациентов, которым был проведен также классический набор инструментальных исследований при подозрении на опухолевую патологию кости, затем выполнена ИК-спектроскопия сыворотки крови (патент РФ № 2352256, 2009г). В тех случаях, когда опухоль считалась доброкачественной, на основании предложенного метода диагностики больному выполнялась одномоментно резекция кости с замещением дефекта ауто- или аллотрансплантатом, обработка зоны резекции потоком низкотемпературной плазмы, остеосинтез по показаниям. При отнесении опухоли к злокачественной пациентам в стационаре выполнялась открытая биопсия опухоли кости.

В основной группе с целью улучшения качества предварительной дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей костей, уменьшения доли ложноположительных и ложно-отрицательных результатов, был применен метод ИК-спектроскопии сыворотки крови, который является одним из важнейших современных физических методов исследования в органической, биологической химии и медицине [10].

Полученные данные свидетельствуют о том, что происходит повышение содержания карбонильных групп белков в плазме и в эритроцитах крови больных раком легкого по сравнению с соответствующими показателями здоровых людей на 332% и 314% соответственно [11, 12]. У больных раком молочной железы на ранних стадиях было зарегистрировано увеличение концентрации маркера карбонильного напряжения в сыворотке крови [13]. Расчетные и экспериментальные данные показали, что карбонильная группа $C=O$ поглощает на длине волны 1650 см^{-1} , пик которой легко можно выделить из общего спектра поглощения соединения и судить об ее сравнительной концентрации в исследуемом веществе [14, 15]. В работе рассматривается анализ концентрации карбонильных групп ($C=O$) белков сыворотки крови пациента, как биомаркера злокачественного процесса.

На базе Самарского государственного медицинского университета впервые было предложено использовать метод ИК-спектроскопии сыворотки крови в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей костей в комплексе с классическим набором инструментальных исследований как дополнительный диагностический метод. Определялся коэффициент поглощения ИК-излучения сывороткой крови на длине волны карбонильной группы (1650 см^{-1}). Чем выше коэффициент поглощения, тем, соответственно, выше концентрация карбонильных групп белков в сыворотке пациента. После получения совокупной выборки с помощью математического моделирования нами была определена точка разделения в коэффициентах поглощения, соответствующих доброкачественной и злокачественной опухоли кости.

Бралась кровь из локтевой вены больного, у которого имелась опухоль кости на основании клинических данных и стандартного набора инструментальных исследований. Приготавливалась сыворотка крови по стандартной методике. Сыворотка помещалась в проточную ячейку нарушенного полного внутреннего отражения инфракрасного Фурье-спектрофотометра Tensor 27 Bruker optics (рис. 1). Снимались спектры поглощения образцов сыворотки. Затем инфракрасные спектры оцифровывались, определялись коэффициенты поглощения (X) для каждой пробы на длине волны карбонильной группы белка сыворотки крови $C=O$ (1650 см^{-1}). Цифровая обработка спектров заключалась в вычитании известного спектра воды. Коэффициенты сравнивались, сопоставлялись с данными референтного метода.

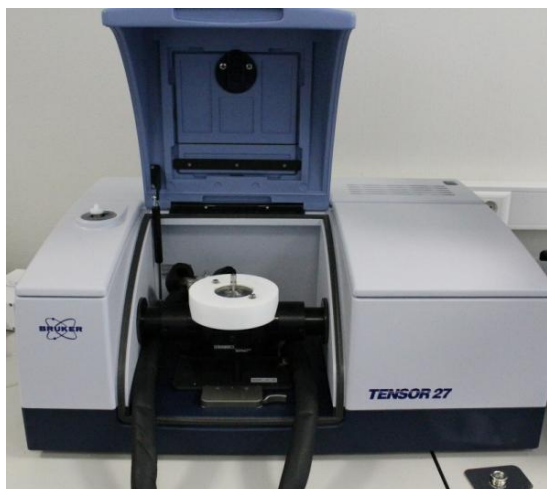


Рис. 1. Инфракрасный Фурье-спектрофотометр Tensor 27 Bruker optics

Результаты. В результате применения стандартного набора инструментальных исследований при подозрении на опухолевую патологию кости были достигнуты следующие показатели диагностической ценности: чувствительность – 79,6%; специфичность – 81,3%; точность – 80,4%; прогностическая ценность положительного результата – 82,9%; прогностическая ценность отрицательного результата – 77,8%. В результате применения ИК-спектроскопии сыворотки крови в комплексе со стандартным набором инструментальных исследований при подозрении на опухолевую патологию кости были

достигнуты следующие показатели диагностической ценности: чувствительность – 89,1%; специфичность – 84,8%; точность – 87,5%; прогностическая ценность положительного результата – 90,7%; прогностическая ценность отрицательного результата – 82,3%. Значения коэффициентов поглощения ИК-излучения сывороткой крови, соответствующие доброкачественным опухолям, лежали в промежутке: $0,07595 \pm 0,00076$; значения коэффициентов поглощения ИК-излучения сывороткой крови, соответствующие злокачественным опухолям лежали в промежутке: $0,09431 \pm 0,0082$.

Графики теоретических нормальных распределений поглощения сыворотки крови для доброкачественных и злокачественных опухолей представлены на рис. 2. Построение выполнялось стандартным методом после табулирования известной формулы для плотности вероятности по закону Гаусса:

$$P(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi} \cdot \sigma} \cdot e^{-\frac{(x-a)^2}{2\sigma^2}}$$

Точка разделения между значениями коэффициентов поглощения сыворотки крови доброкачественной и злокачественной опухоли соответствует уровню поглощения $X_p = 0,085$.

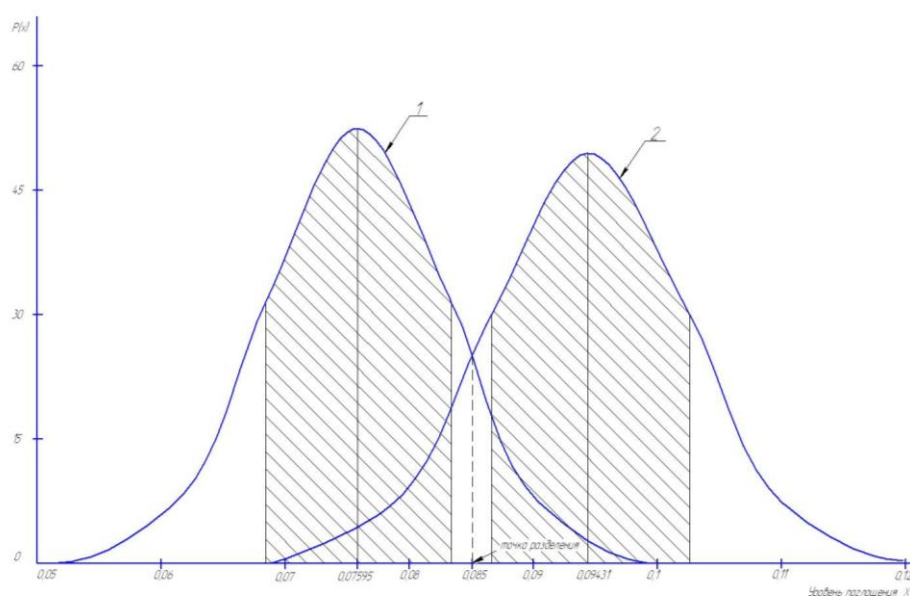


Рис. 2. Теоретические нормальные распределения коэффициентов поглощения для сыворотки крови от доброкачественных (1) и злокачественных (2) опухолей на частоте 1650 см^{-1} . Штриховкой показаны границы стандартных отклонений

Клинический пример № 1.

Больная Е., 1957 года рождения (история болезни № 19572131/728) находилась на стационарном лечении в отделении общей онкологии с диагнозом: гигантоклеточная опухоль типичного строения верхней трети

правой бедренной кости 1 б кл.гр. Больную беспокоили боли в правом тазобедренном суставе. Больной выполнена рентгенография правого бедра в прямой проекции (рис. 3), компьютерная томография, скintiграфия скелета (накопление РФП 315%). Заключение: больше

данных за хондрому верхней трети правой бедренной кости. Затем ИК-спектроскопия сыворотки крови (рис. 4). Заключение: коэффициент поглощения на длине волны карбонильной группы (1650 см^{-1}) равен $0,07975$. Больной выполнена резекция верхней трети правой бедренной кости, обработка зоны резекции потоком низкотемпературной плазмы аргоно-плазменной установкой в режиме коагуляции мощностью 100 Вт ,

комбинированная реконструкция: аутопластика фрагментом гребня крыла правой подвздошной кости + цементастика, блокированный интрамедуллярный остеосинтез гамма - стержнем. Гистологическое заключение плановое № 57485-88 – гигантоклеточная опухоль типичного строения.



Рис. 3. Рентгенограмма ГКО типичного строения бедренной кости (локализация опухоли выделена)

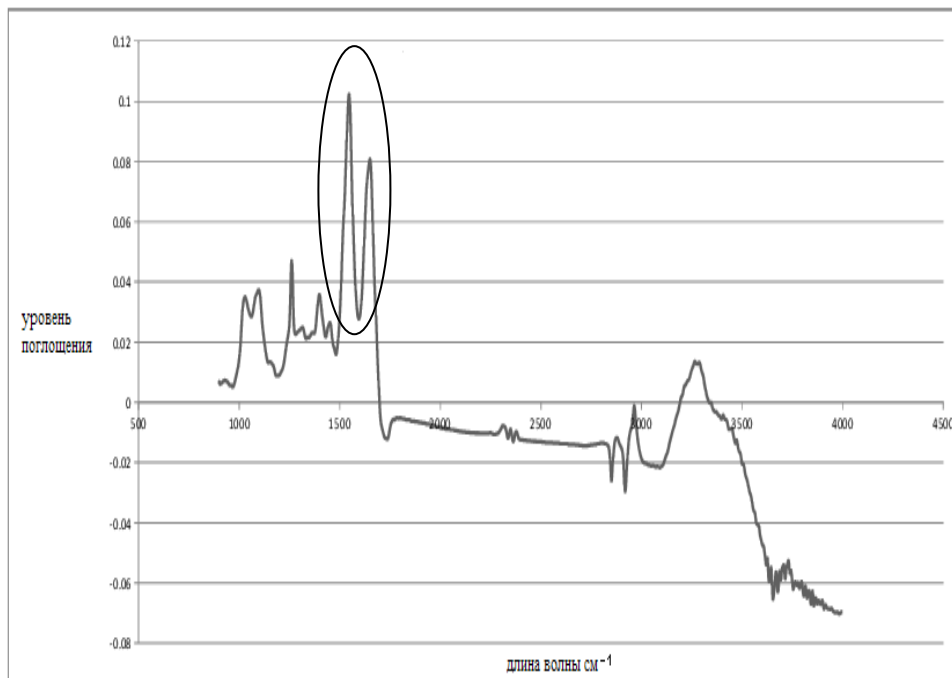


Рис. 4. Спектральная зависимость поглощения ИК-излучения сывороткой крови (пик поглощения карбонильной группы C=O выделен длина волны 1650 см^{-1})

Клинический пример № 2.

Больной М., 1963 года рождения (история болезни № 21166131/780) находился на стационарном лечении в отделении общей онкологии с диагнозом:

злокачественная остеобластокластома левой лонной кости pT2N0M0 2ст 3 кл.гр. Больного беспокоили боли в левой паховой области, усиливающиеся при ходьбе. Выполнена рентгенография костей таза в

прямой проекции (рис. 5). Заключение: опухоль левой лонной кости. При ИК-спектроскопии сыворотки крови коэффициент поглощения на длине волны карбонильной группы (1650 см^{-1}) равен 0,09224 (рис. 6). Выполнена открытая биопсия. Гистологическое заключение плановое № 62758-65 – гигантоклеточная опухоль. Для определения степени злокачественности

проведено ИГХ-исследование. Индекс пролиферативной активности Ki-67 равен 8%, что соответствует злокачественному варианту гигантоклеточной опухоли (ГКО).

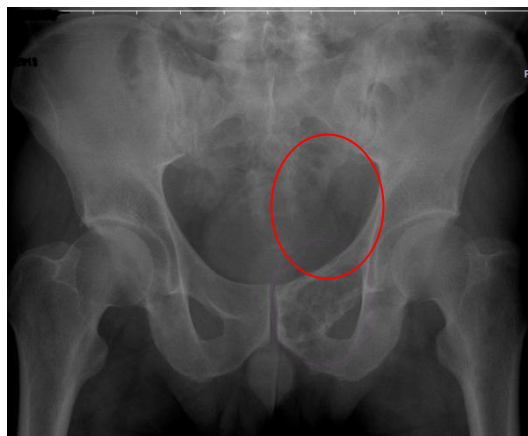


Рис. 5. Рентгенограмма злокачественной ГКО левой лонной кости (локализация опухоли выделена)

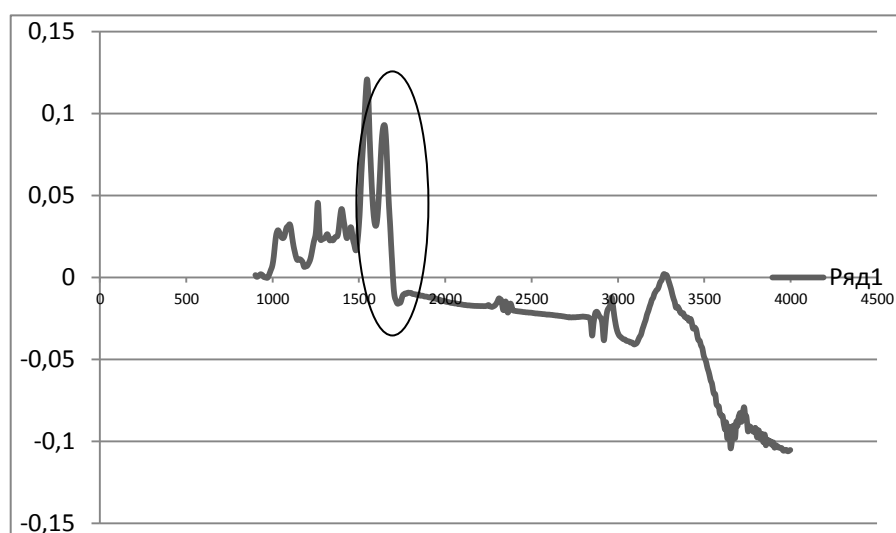


Рис. 6. Спектральная зависимость поглощения ИК-излучения сывороткой крови (пик поглощения карбонильной группы $\text{C}=\text{O}$ выделен длина волны 1650 см^{-1})

Обсуждение результатов. Приступая к настоящему исследованию в качестве главной цели рассматривался поиск дополнительного диагностического метода, который бы мог дополнить стандартный набор инструментальных исследований, снизить долю ложноположительных результатов за счет повышения специфичности диагностики и долю ложноотрицательных результатов за счет повышения чувствительности. В реальной клинической практике это позволило бы не проводить необязательные открытые биопсии или, наоборот, гиподиагностику. Этой цели удалось добиться за счет применения в комплексе со стандартным

набором инструментальных исследований ИК-спектроскопии сыворотки крови. При анализе статистических данных мы руководствовались рассчитанным показателем точки разделения $X_p=0,085$ в коэффициентах поглощения, соответствующих доброкачественной и злокачественной опухоли кости. Диагноз злокачественной опухоли мы ставили при коэффициентах поглощения $X \geq 0,085$, диагноз доброкачественной опухоли при $X < 0,085$. Применение нового метода в поликлинике с целью предварительной дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей костей позволило снизить долю ложноположительных

результатов за счет повышения специфичности с 81,3% до 84,8%; долю ложно-отрицательных результатов за счет повышения чувствительности с 79,6% до 89,1% ($p = 0.006$).

Выводы: комплексная диагностика, включающая оценку содержания карбонильных производных белков в сыворотке крови больных, дает возможность существенно увеличить долю истинно-положительных результатов дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей костей: чувствительность метода – 89,1%, специфичность – 84,8%, точность – 87,5%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Алиев, М.Д. Детская онкология // М.Д. Алиев, В.Г. Поляков. – М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012. 380 с.
2. Алиев, М.Д. Хондросаркома кости // М.Д. Алиев, Ю.Н. Соловьев, Т.К. Харатишвили – М.: Инфра-М, 2006. 216 с.
3. Давыдов, М.И. Национальное руководство по онкологии // М.И. Давыдов, В.И. Чиссов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 860 с.
4. Арзамасцев, А.П. Современное состояние проблемы применения ИК-спектроскопии в фармацевтическом анализе лекарственных средств / А.П. Арзамасцев, Н.П. Садчикова // Химико-фармацевтический журнал. 2008. №8. С. 26-29.
5. Миронов, С.П. Ортопедия: национальное руководство // С.П. Миронов, Г.П. Котельников – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 872 с.
6. Нейштадт, Э.Л. Опухоли и опухолеподобные заболевания костей // Э.Л. Нейштадт, А.Б. Маркочев. – СПб., 2007. 378 с.
7. Тепляков, В.В. Реконструктивные операции при лечении пациентов со злокачественными опухолями костей тазового кольца. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи // В.В. Тепляков, В.Ю. Карпенко, В.А. Державин и др. 2012. № 3. С. 16-28.
8. Bickels, J. Clinic Orthopedic // J. Bickels, J. Witting, Y. Kollender et al. 2002. № 400. P. 225-235.
9. Чиссов, В.И. Руководство по онкологии // В.И. Чиссов, С.Л. Дарьялова, М.Д. Алиев и др. – М., 2008. 809 с.
10. Гордеев, А.С. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей. – Нижний Новгород, 2010. С. 88.
11. Котельников, Г.П. Доказательная медицина. Научно-обоснованная медицинская практика // Г.П. Котельников, А.С. Шпигель – Самара, 2000. 208 с.
12. Пентин, Ю.А. Физические методы исследования в химии // Ю.А. Пентин, Л.В. Вилков. – М., 2003. 96 с.
13. Rossner, P.Jr. Plasma protein carbonyl levels and breast cancer risk / P. Jr. Rossner, M.B. Terry, M.D. Gammon et al. // Cell Mol Med. 2007. V.11(5). P. 1138-1148.
14. Yeh, C.C. Protein carbonyl levels, glutathione S-transferase polymorphisms and risk of colorectal cancer // C.C. Yeh, C.Y. Lai, L.L. Hsieh et al. / Cancerogenesis. 2010. V. 31(2). P. 228-233.
15. Zipprich, J. Plasma protein carbonyls and breast cancer risk in sisters discordant for breast cancer from the New York site of the Breast Cancer Family Registry / J. Zipprich, M.B. Terry, Y. Liao et al. // Cancer Res. 2009. V. 69(7). P. 966-972.

INFRARED SPECTROSCOPY OF BLOOD SERUM IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF BONE TUMORS

© 2015 S.V. Kozlov¹, A.N. Nikolaenko^{1,2}, V.V. Ivanov^{1,2}

¹ Samara State Medical University

² Samara Regional Clinical Oncology Center

The work is devoted to a new integrated approach to differential diagnostics of bones skeleton tumors. In it possibility of application the modern physical-chemical method IR-spectroscopy of blood serum in addition to existing tool researches for the purpose of share reduction in false manner – positive is considered and is false – negative results of diagnostics. Research objective: To improve results of differential diagnostics of benign and malignant tumors of skeleton bones by means of IR-spectroscopy of blood serum. Using the new method in polyclinic for the purpose of preliminary differential diagnostics of benign and malignant tumors of bones allowed to lower share in false manner – positive results due to specificity increase from 81,3% to 84,8%; share false negative results due to sensitivity increase from 79,6% to 89,1% ($p=0.006$). It allowed to optimize indications for performance of open biopsy of a tumor.

Key words: blood serum, infra-red spectroscopy, tumors, bones

Sergey Kozlov, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Oncology Department. E-mail: KozlovSV@samaraonko.ru
Andey Nikolaenko, Post-graduate Student
Viktor Ivanov, Assistant at the Department of Traumatology, Orthopedics and Extreme Surgery. E-mail: viktor_travm@bk.ru