

УДК: 616.7-006.33/.34:616.15-073.584

ОПТИМИЗАЦИЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕЙ КОСТЕЙ

© 2015 А.Н. Николаенко¹, С.В. Козлов¹, В.В. Иванов¹, А.Е. Орлов²

¹ Самарский государственный медицинский университет

² Самарский областной клинический онкологический диспансер

Поступила в редакцию 31.03.2015

Работа посвящена новому комплексному подходу к дифференциальной диагностике опухолей костей, включающего в себя инфракрасную спектроскопию сыворотки крови и устройство биопсии костной ткани. 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%. Получение биопсийного материала костной ткани с применением оригинального устройства способствует увеличению достоверности гистологического заключения на дооперационном этапе обследования до 96,0% ($p=0,025$), повышает частоту случаев совпадения с заключением планового гистологического исследования на 15,2%, снижает частоту расхождений с плановым гистологическим исследованием на 79,1%.

Ключевые слова: дифференциальная диагностика, опухоль, кости, инфракрасная спектроскопия, биопсия

Первичные новообразования скелета редки и составляют 1,5-2% от всех встречающихся опухолей человека. Заболеваемость в среднем составляет у мужчин 1, а у женщин 0,6-0,7 на 100 000 населения. Чаще всего опухоли костей (ОК) поражают детей и лиц молодого возраста, то есть самый социально весомый и значимый контингент населения [1, 2]. ОК изучены значительно хуже, чем другие злокачественные новообразования (ЗНО). Это объясняется их редкостью, отсутствием в больничной сети страны специализированных отделений, а также тем, что эти опухоли не учитываются как самостоятельная нозологическая форма. Это один из труднейших разделов патологии, как с точки зрения своевременной и правильной диагностики, так и в свете эффективных методов рационального лечения. Одной из наиболее важных задач онкологической ортопедии является раннее выявление ОК, а также дифференциальная диагностика доброкачественных и злокачественных поражений, так как от своевременности

и правильности распознавания патологии зависит выбор оптимального метода лечения [3, 4]. Дифференциальная диагностика ОК скелета сложна и неоднозначна, имеет свои методологические особенности. Отрицательный результат и, как следствие, ошибка в диагностике отражается на лечении конкретного больного и приводит к нерадикальной терапии, способствующей рецидивам и метастазам, которые могут завершаться генерализацией процесса, либо к неоправданно радикальному, калечащему лечению [5, 6].

В целях получения дополнительной информации о клинических особенностях онкологического заболевания в настоящее время активно изучаются различные биологические маркеры. Как один из показателей развития патологического процесса у онкологических больных рассматривают повышение активности окислительных процессов в организме. Отражением этих процессов является увеличение в плазме и сыворотке крови уровня карбонильных производных групп белков (Musolino C. et al., 2011; Zipprich J. et al., 2009; Белоногов Р.Н., Титова Н.М. 2007), содержание которых может быть определено биохимическими и физико-химическими методами, в частности, методом инфракрасной спектроскопии. Информативность данного показателя для дифференциации доброкачественных и ЗНО, в том числе, ОК, не исследована.

Николаевно Андрей Николаевич, аспирант. E-mail: nikolaenko.83@inbox.ru

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

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

Орлов Андрей Евгеньевич, кандидат медицинских наук, доцент, главный врач. E-mail: OrlovAE@samaraonko.ru

Решающее значение для правильной диагностики ОК принадлежит гистологическому исследованию биопсийного материала. Предпочтительным способом забора опухолевой ткани считается открытая хирургическая биопсия. Большое значение для правильной трактовки результатов гистологического исследования имеет качество морфологического материала, важным условием которого является получение образца ткани без нарушения дифференцировки слоев *in vivo*, что не всегда достижимо с применением традиционных подходов [7, 8]. Таким образом, несмотря на постоянное совершенствование методов обследования больных, проблема дифференциальной диагностики ОК до настоящего времени остается достаточно актуальной, что требует поиска подходов, которые позволят уменьшить долю ложных результатов на всех этапах обследования больных с данной патологией.

Цель исследования: улучшить результаты дифференциальной диагностики ОК при помощи инфракрасной спектроскопии сыворотки крови и устройства биопсии костной ткани.

Материалы и методы. Клиническое исследование выполнено в период с 2011 по 2013 гг. на базе клинко-диагностического отделения и отделения общей онкологии Самарского областного клинического онкологического диспансера (СОКОД).

Пациенты и клинические методы исследований. В исследование включены 180 пациентов с опухолевым поражением кости, из них – 123 мужчины и 57 женщин в возрасте от 18 до 69 лет. Среди пациентов: 76 больных с доброкачественной ОК (хондрома – 25, гигантоклеточная опухоль типичного строения – 12, остеома – 15, хондробластома – 14, гемангиома – 10); 94 больных с первичной злокачественной ОК (хондросаркома – 25, злокачественная гигантоклеточная опухоль – 23, остеосаркома – 32, саркома Юинга – 14); 10 больных с солитарным метастазом в кость из невыявленного первичного очага. При хондросаркоме стадия заболевания T1N0M0 установлена у 9 пациентов, стадия T2N0M0 – у 16 пациентов; при остеосаркоме – у 11 и 21 пациента, соответственно, при злокачественной гигантоклеточной опухоли – у 3 и 12 пациентов, соответственно. Диагноз у больных установлен на основании данных комплексного клинического обследования и гистологического исследования образцов тканей. Больным доброкачественной ОК выполнялась одномоментно резекция кости с замещением дефекта ауто- или аллотрансплантатом, обработка зоны резекции потоком низкотемпературной плазмы, остеосинтез по показаниям (Терсков А.Ю. с соавт, 2013).

Больные с подтвержденным злокачественным поражением кости в дальнейшем получали лечение, соответствующее локализации и распространенности опухолевого процесса.

Первую (группу сравнения) составили 92 пациента, анализ результатов обследования у которых проведен ретроспективно, по архивным историям болезней за 2011 г. Обследование больных проводилось с применением классического комплекса инструментальных исследований: рентгенографии, компьютерной томографии, сцинтиграфии. В ходе анализа случаев, в которых на основании результатов клинического и инструментального обследования пациентам выполнялась открытая биопсия костной ткани, интерпретировали как подозрение на злокачественную опухоль. Случаи, в которых больным выполнялась резекция кости одномоментно с замещением дефекта, расценивали как предварительный диагноз доброкачественной опухоли. Открытая биопсия костной ткани у больных с подозрением на злокачественную опухоль выполнялась стандартным способом.

Основную группу составили 88 пациентов, которым наряду со стандартным комплексом инструментальных исследований, выполнена инфракрасная (ИК) спектроскопия сыворотки крови. Открытая биопсия костной ткани выполнялась с использованием оптимизированного устройства (см. далее). Гистологическое заключение получали через 7-10 дней после выполнения процедуры открытой биопсии костной ткани. Основная группа пациентов формировалась методом стратифицированной рандомизации и набиралась из пациентов, которые обратились в СОКОД в случайно выбранный момент времени (2012-2013 гг.). Стратификация больных по диагнозу доброкачественной или злокачественной опухоли проводилась соответственно заключению планового гистологического исследования.

Группа сравнения и основная группа пациентов статистически не отличались распределением больных по полу, возрасту, гистологическому диагнозу, а также стадии заболевания у больных злокачественными ОК. При анализе результатов диагностического обследования оценивали точность постановки предварительного диагноза доброкачественной или злокачественной опухоли с использованием классического комплекса инструментальных исследований, а также эффективность открытой биопсии костной ткани. Критериями оценки качества дифференциальной диагностики служили показатели чувствительности, специфичности, точности, прогностической ценности положительного и отрицательного результата.

Критериями оценки эффективности открытой биопсии служили: интенсивность болевого синдрома в послеоперационном периоде, сопоставление с плановым гистологическим исследованием удаленного препарата (референтный метод), наличие или отсутствие осложнений, необходимость привлечения анестезиологического пособия. Интенсивность болевого синдрома в послеоперационном периоде оценивалась как сумма баллов после оценки субъективных ощущений пациентами при помощи визуально-аналоговой шкалы.

Определение уровня карбонильных производных белков в сыворотке крови. Определение проводили методом инфракрасной спектроскопии (патент РФ № 2352256, 2009 г.), преимуществом которого является возможность быстро, точно, без дополнительных реактивов определить уровень карбонильных производных белков в сыворотке крови [9]. Цельную кровь получали из локтевой вены. Сыворотку крови после образования сгустка отделяли центрифугированием. Интервал времени между получением сыворотки крови и ее лабораторным исследованием составлял 1,5-2 часа. Спектроскопическое исследование проводили на Фурье-спектрофотометре Tensor 27 Bruker optics (рис. 1), оснащенный приставкой нарушенного полного внутреннего отражения (рис. 2). Сыворотку наносили на приставку, в течение 100-120 секунд снимали спектр поглощения, который затем оцифровывали с вычетом известного спектра поглощения воды и определяли коэффициент поглощения на длине волны 1650 см^{-1} .



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

Описание нового устройства для биопсии костной ткани. На аутопсийном материале разработано новое оригинальное устройство биопсии костной ткани (патент РФ № 109395, 2011г.) (рис. 3).

Режущая часть устройства выполнена в виде заточенной под углом 45° кромки трубчатого корпуса и снабжено съемной рукояткой, выполненной в виде трубки-направителя с внутренним диаметром, соответствующим наружному диаметру корпуса и с глухим торцом. Длина трубки-направителя равна половине длины корпуса, а на корпусе выполнена линейная шкала его погружения в опухолевую ткань.

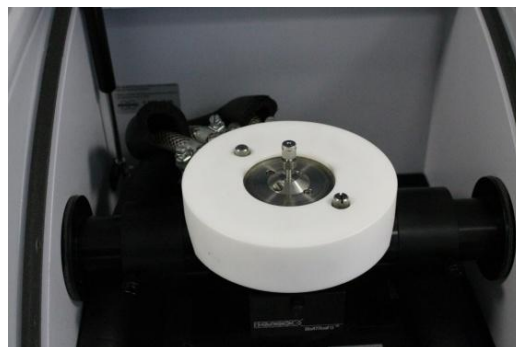


Рис. 2. Проточная ячейка нарушенного полного внутреннего отражения



Рис. 3. Внешний вид устройства

Устройство использовали следующим образом. После обезболивания рассекали мягкие ткани, устройство размещали режущей частью на опухолевую ткань в заданном направлении (рис. 4). На корпусе размещали рукоятку и производили удары молотком по торцу рукоятки. Устройство постепенно погружалось в опухолевую ткань на заданную глубину под контролем линейной шкалы. Режущая часть отсекала взятый материал цилиндрической формы. После этого устройство наклоняли чуть в сторону и удаляли. Взятый биопсийный материал в виде столбика направлялся на гистологическое исследование, а мягкие ткани послойно ушивали.



Рис.4. Разрез кожи при открытой биопсии костной ткани новым методом

Статистическая обработка результатов.

Расчет базовых статистических характеристик при оценке распределения количественных величин проводили с использованием приложения Windows XP Microsoft Excel. Расчет других статистических характеристик – с использованием программы Primer of Biostatistics 4.03 (Stanton A. Glantz, McGraw Hill). Для расчета диагностических параметров и оценки уровня их достоверности использовали программу MedCalc 12.3.0 (MedCalc Software, Mariakerk, Belgium). Расчет дискриминационного уровня между коэффициентами поглощения инфракрасного (ИК) излучения сывороткой крови для доброкачественной и злокачественной ОК проводился с помощью математического моделирования и табулирования известной формулы закона Гаусса. Были построены теоретические кривые распределения относительной частоты повторения от коэффициента поглощения отдельно для подгрупп с доброкачественной и злокачественной ОК в основной группе пациентов [10].

Результаты. С целью определения точности постановки предварительного диагноза с использованием классического комплекса инструментальных исследований, а также эффективности традиционной открытой биопсии костной ткани выполнен ретроспективный анализ клинических данных, полученных в группе сравнения на догоспитальном этапе обследования больных. Получено, что комплекс методов, включающий рентгенографию, компьютерную томографию и сцинтиграфию, характеризуется следующими диагностическими показателями: чувствительность – 79,6%; специфичность – 81,3%; точность – 80,4%; прогностическая ценность положительного результата – 82,9%; прогностическая ценность отрицательного результата – 77,8%.

Использование инфракрасной спектроскопии сыворотки крови. В ходе экспериментов, выполненных на базе Самарского государственного медицинского университета, установлено, что уровень поглощения инфракрасного

излучения на длине волны карбонильной группы белков $C=O$ (1650 см^{-1}) в образцах сыворотки крови больных доброкачественными ОК ниже, чем в образцах сыворотки крови больных злокачественными ОК. Эти наблюдения стали основанием для исследования возможности применения метода инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в целях дифференциальной диагностики доброкачественного и злокачественного опухолевого поражения костей. Главной целью был поиск дополнительного диагностического метода, который бы мог дополнить стандартный набор инструментальных исследований, снизить долю ложно-положительных результатов за счет повышения специфичности диагностики и долю ложно-отрицательных результатов за счет повышения чувствительности. По результатам лабораторных исследований, среднее значение коэффициента поглощения инфракрасного излучения сывороткой крови больных доброкачественными ОК составило $0,07595 \pm 0,0076$; для больных злокачественными ОК аналогичное значение составило $0,09431 \pm 0,0082$ ($p < 0,001$). Дискриминационный уровень для коэффициента поглощения, рассчитанный на основе сравнительного анализа распределения полученных величин и достоверно отличающий группы больных доброкачественными или злокачественными ОК, составил $X_p = 0,085$.

Комплексное обследование больных с применением метода инфракрасной спектроскопии сыворотки крови характеризовалось следующими диагностическими показателями: чувствительность – 89,1%; специфичность – 84,8%; точность – 87,5%; прогностическая ценность положительного результата – 90,7%; прогностическая ценность отрицательного результата – 82,3%. Применение нового метода в поликлинике с целью предварительной дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных ОК 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% ($p = 0,006$).

Таким образом, применение инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в комплексе со стандартным набором инструментальных исследований дает возможность существенно повысить эффективность дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных ОК на этапе поликлинического обследования.

Открытая биопсия костной ткани стандартным способом. В группе сравнения было выполнено 47 открытых биопсий. При ретроспективном анализе эффективности стандартной методики открытой биопсии, получены следующие результаты:

1. Во всех случаях манипуляция выполнялась с привлечением анестезиологического пособия. 18 (38,3%) больным открытая биопсия выполнялась с помощью эндотрахеального наркоза; 29 (61,7%) больным – с помощью проводниковой анестезии.

2. Осложнения возникли в 4 случаях (8,5%): нагноение – у 1 пациента (2,1%), длительная лимфорея – у 2 пациентов (4,2%), вторичное кровотечение – у 1 пациента (2,1%);

3. Средняя интенсивность болевого синдрома в послеоперационном периоде составила: $6,98 \pm 1,15$ баллов.

4. Гистологическое заключение после открытой биопсии совпало с плановым гистологическим заключением в 38 (80,8%) наблюдениях.

Открытая биопсия костной ткани с использованием оптимизированного устройства. С целью снижения доли осложнений, последствий операционной травмы, повышения достоверности гистологического заключения на кафедре травматологии, ортопедии и экстремальной хирургии и онкологии Самарского государственного медицинского университета было разработано оригинальное устройство забора морфологического материала костной ткани с оптимизированным диаметром и углом наклона режущей части (патент РФ № 109395, 2011 г.). С использованием данного устройства на базе отделения общей онкологии СОКОД проведено 54 биопсии у больных с подозрением на злокачественную опухоль на этапе поликлинического обследования. Получены следующие результаты: при помощи нового устройства открытая биопсия костной ткани с привлечением анестезиологического пособия (проводниковая анестезия) выполнялась в 14 (28%) наблюдениях; в 36 (72%) наблюдениях – под местной инфильтрационной анестезией. Возможность проведения процедуры биопсии при местной анестезии являлось благоприятным фактором для пациента. Осложнение в виде вторичного кровотечения отмечено у одного больного (2%). Средняя интенсивность болевого синдрома в послеоперационном периоде составила: $3,08 \pm 1,09$ баллов. Гистологическое заключение после открытой биопсии совпало с плановым гистологическим заключением в 52 наблюдениях (96,0%).

В целом результатом применения нового устройства стало более, чем вдвое снижение интенсивности болевого синдрома в послеоперационном периоде ($p < 0,01$), уменьшение количества осложнений ($p > 0,05$), значительное снижение числа случаев привлечения анестезиологического пособия – со 100% до 28%, повышение достоверности гистологического заключения с 80,8% при стандартной методике до 96,0% при помощи нового устройства ($p = 0,025$). Пока-

затели эффективности: повышение относительной пользы нового устройства биопсии костной ткани составило 18,8%, повышение абсолютной пользы нового устройства биопсии костной ткани составило 15,2%, снижение относительного риска по сравнению со стандартной методикой забора костной ткани составило 79,1%.

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%. Получение биопсийного материала костной ткани с применением оригинального устройства способствует увеличению достоверности гистологического заключения на дооперационном этапе обследования до 96,0% ($p = 0,025$), повышает частоту случаев совпадения с заключением планового гистологического исследования на 15,2%, снижает частоту расхождений с плановым гистологическим исследованием на 79,1%.

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. Миронов, С.П. Ортопедия: национальное руководство // С.П. Миронов, Г.П. Котельников – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 872 с.
5. Нейштадт, Э.Л. Опухоли и опухолеподобные заболевания костей // Э.Л. Нейштадт, АБ. Маркочев. – СПб., 2007. 378 с.
6. Тепляков, В.В. Реконструктивные операции при лечении пациентов со злокачественными опухолями костей тазового кольца / В.В. Тепляков, В.Ю. Карпенко, В.А. Державин и др. // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2012. № 3. С. 16-28.
7. Чиссов, В.И. Руководство по онкологии // В.И. Чиссов, С.Л. Дарьялова, М.Д. Алиев и др. – М., 2008. 809 с.
8. 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.
9. Гордеев, А.С. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей. – Нижний Новгород, 2010. С. 88.
10. Котельников, Г.П. Доказательная медицина // Г.П. Котельников, А.С. Шпигель // Научно-обоснованная медицинская практика. – Самара, 2000. 208 с.

OPTIMIZATION THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF BONE TUMOURS

© 2015 A.N. Nikolayenko¹, S.V. Kozlov¹; V.V. Ivanov¹, A.E. Orlov²

¹ Samara State Medical University

² Samara Regional Clinical Oncology Center

The work is devoted to a new integrated approach to differential diagnosis of bone tumor, including infrared spectroscopy of blood serum and the device for biopsy of bone tissue. The complex diagnostics including the estimation the content of carbonyl derivative proteins in blood serum of patients gives the chance significantly to increase a share of true and positive results of differential diagnosis of malignant and benign bone tumors: sensitivity of a method – 89,1%, specificity – 84,8%, accuracy – 87,5%. Receiving biopsy material of a bone tissue with use the original device promotes increase in reliability of histologic conclusion at presurgical stage of inspection to 96,0% ($p=0,025$), increases the frequency of cases of coincidence to the conclusion of planned histologic research for 15,2%, reduces the frequency of divergences with planned histologic research by 79,1%.

Key words: *differential diagnostics, tumor, bones, infrared spectroscopy, biopsy*

Andrey Nikolaenko, Post-graduate Student. E-mail:
nikolaenko.83@inbox.ru

Sergey Kozlov, Doctor of Medicine, Professor, Head
of the Oncology Department. E-mail:
KozlovSV@samaraonko.ru

Viktor Ivanov, Assistant at the Department of
Traumatology, Orthopedics and xtreme Surgery.
E-mail: viktor_travm@bk.ru

Andrey Orlov, Candidate of Medicine, Associate
Professor, Chief Physician. E-mail:
OrlovAE@samaraonko.ru