



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62833 (13) A

(51) 7 G01N33/49, G01N24/10

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ РОЗПОВСЮДЖЕНОСТІ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

1

2

(21) 2003065933

(22) 26 06 2003

(24) 15 12 2003

(46) 15 12 2003, Бюл. № 12, 2003 р.

(72) Сидорик Євген Петрович, Бурлака Анатолій
Павлович, Євтушенко Олег Іванович(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛО-
ГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКО-
ГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

(57) Спосіб оцінки розповсюдженості злоякісних

пухлин шлунково-кишкового тракту шляхом дослі-
дження гепаринізованої венозної крові хворого,
який відрізняється тим, що методом електронно-
го парамагнітного резонансу визначають показни-
ки рівнів утворення в цільній венозній крові ком-
плексу оксид азоту-гемоглобін (NO-Hb) і при рівнях
1,4-2,0 раковий процес локальний - $T_{13}N_{0.2}M_0$, а
при їх зростанні до 2,4-5,5 злоякісний процес роз-
повсюджений - $T_{3.4}N_{0.2}M_1$

Винахід відноситься до галузі медицини, а са-
ме до онкології і може використовуватись для ви-
значення ступеня розповсюдженості злоякісного
процесу до початку лікування хворих на рак орга-
нів шлунково-кишкового тракту, що дає можливість
вибрати оптимальний варіант лікування.

Актуальність визначення розповсюдженості
пухлинного процесу зумовлена необхідністю, до
операції, на етапі планування об'єму лікувальних
заходів, отримати об'єктивні дані, що дозволять
уникнути непотрібного лікування і розробити опти-
мальний лікувальний алгоритм. Як свідчить клініч-
ний досвід, відсутність повної інформації про сту-
пінь розповсюдженості ракового процесу
призводить до непотрібного застосування тих чи
інших лікувальних заходів, які не в змозі дати по-
зитивний ефект і в той же час мають великий ри-
зик виникнення ускладнень, негативну дію на ор-
гани і системи організму хворих, а також високу
вартість [1]. Тому створення способів визначення
розповсюдженості злоякісного процесу на почат-
ковому етапі лікування є необхідним заходом,
оскільки сприяє його оптимізації, уникненню нега-
тивного впливу на організм хворих неадекватних
методів, здешевленню та скороченню його повно-
го курсу у хворих зі злоякісними пухлинами шлун-
ково-кишкового тракту.

З метою визначення розповсюдженості пух-
линного процесу органів шлунково-кишкового тра-
кту застосовують комплекс діагностичних засобів,
який включає пальпацію, рентгенологічне, ендос-
копічне, ультразвукове та радіоізотопне дослі-
дження [1, 2, 3].

Найбільш близьким є спосіб оцінки розповсю-
дженості злоякісних пухлин шлунково-кишкового

тракту методом оцінки рівнів раково-
ембріонального антигену, який ми обираємо за
прототип [4]. Спосіб полягає в наступному: перед
початком проведення лікування беруть венозну
кров хворого, гепаринізують, центрифугують і до-
сліджують у її плазмі рівні раково-ембріонального
антигену методом радіоімунного аналізу.

Відомий спосіб передбачає, що дослідження
проводиться в спеціалізованому радіоізотопному
відділенні, оснащеному складною коштовною апа-
ратурою. Крім того, раково-ембріональний антиген
в даному випадку не є однаково специфічним для
пухлин товстої кишки та шлунку, крім того його
високі рівні можуть спостерігатись не тільки при
розповсюджених формах злоякісних пухлин орга-
нів шлунково-кишкового тракту, але й при будь-
яких процесах запального характеру, що негативно
відбивається на достовірності висновків при
оцінці і інтерпретації отриманих даних. Слід зазна-
чити, що дослідження виконують після того, як
набирається достатня кількість зразків для стан-
дартного набору, а це може тривати на протязі
декількох днів і навіть тижнів, що негативно відби-
вається на його експресності.

В основу винаходу, що заявляється поставле-
но задачу підвищення точності, інформативності
та досягнення експресності способу оцінки ступеня
розповсюдженості злоякісних пухлин шлунково-
кишкового тракту шляхом електронної парамагніт-
но-резонансної спектроскопії пухлинного маркера
для забезпечення показників, за якими визначають
ступінь розповсюдженості ракового процесу, знан-
ня якого дозволяє вибрати оптимальний варіант
лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що для

(13) A
(11) 62833
(19) UA

дослідження використовують цільну венозну кров хворого і в ній визначають рівень утворення комплексу оксид азоту-гемоглобін (NO-Hb) методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР)

В стабілізованій гепарином венозній крові хворого виявляють комплекс NO-Hb, який утворюється при підвищенні вмісту в тканинах ендogenous оксиду азоту (NO), внаслідок індукції NO-синтаз радикальними формами кисню, що зростають з прогресією злоякісного пухлинного росту, встановлюють конформаційні зрушення в молекулі гемоглобіну, тобто зміни у співвідношеннях між T- і R-конформерами, які змінюють спорідненість гемоглобіну, до кисню (O_2) та оксиду азоту (NO)

Ця задача вирішується шляхом оцінки вмісту рівнів комплексів NO-Hb в крові хворих

Метод ЕПР дає можливість отримати інформацію про механізм функціонування клітин та про порушення, котрі виникають в клітинних системах під дією різних чинників. Зміни в метаболізмі тканин також можуть бути виявлені методом ЕПР, оскільки в найбільш важливих ферментативних і окисно-відновних процесах активними проміжними станами являються вільні радикали і парамагнітні стани металокомплексів, які оцінюються і інтерпретуються в залежності від величини рівнів комплексів NO-Hb

Суть способу оцінки розповсюдженості злоякісних пухлин шлунково-кишкового тракту для встановлення ступеня розповсюдженості пухлинного процесу полягає в тому, що перед початком лікування беруть венозну кров хворого, стабілізують її гепарином. Методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) визначають рівні комплексів NO-Hb і за його показниками роблять висновок про розповсюдження ракового процесу і подальше лікування

При рівнях, що відповідають 1,4-2,0 і нижче - пухлина знаходиться в межах органу і раковий процес має локальний характер - $T_{1.3}N_{0.2}M_0$. Рівні, що складають 2,4-5,5 свідчать про розповсюджений раковий процес - $T_{3.4}N_{0.3}M_1$. Наявність таких вихідних даних дає можливість уникнути застосування неадекватних методів і відразу застосувати оптимальну схему лікування

Зразки для виконання дослідження готували наступним чином: до 0,1 мл за стабілізованої гепарином венозної крові додавали такий же об'єм 0,1 М фосфатного буферу з 6,4 З метою місцевої генерації NO в зразок крові вводили дитіоніт ($0,1M$) і нитриту натрію відповідно до фосфатного буфера. Готові зразки заморожували в рідкому азоті та реєстрували спектри ЕПР на радіоспектрометрі при 77К. На одне дослідження витрачається 10-15 хвилин часу

Суть способу підтверджують приклади конкретного застосування способу, що заявляється

Приклад 1. Хворий К-ий, 68 років, історія хвороби №4934, поступив в стаціонар 12.05.2000 року, зі скаргами на больові відчуття в епігастральній ділянці, загальну слабкість, поганий апетит, втратив 7 кг ваги за останні 3 місяці. При обстеженні - рак нижньої третини шлунку. Діагноз верифікований рентгенологічно, ендоскопічно, морфологічно. ЕПР-спектрометрія комплексів NO-Hb не проводилась. Хворому виконано оперативне втручання

Під час ревізії органів черевної порожнини встановлено - пухлина нижньої та середньої третини шлунку, інфільтрує малий, великий сальник та підшлункову залозу, множинні, щільні лімфатичні вузли по ходу магістральних судин, в сальнику, інфільтрація розповсюджується на поперекову ободову кишку, множинні метастатичні відсіви по висцеральній та парієтальній очеревині, особливо в порожнині малої миски. Враховуючи розповсюдженість ракового процесу операція закінчилась пробною лапаротомією. В післяопераційному періоді мав місце локальний перитоніт та нагноєння лапаротомної, пневмонія. Післяопераційний ліжкодень - 26 діб. Заключний діагноз: рак шлунку $T_4N_1M_1$. Хворий помер від прогресування основного захворювання через 5 місяців після виписки зі стаціонару

Приклад №2. Хворий Г-ий, історія хвороби №1996, 49 років, поступив у стаціонар 14.02.01 року зі скаргами на больові відчуття в епігастрії, нудоту, відсутність апетиту, похував на 7 кг за останні 4 місяці. При обстеженні виявлено рак шлунку, інфільтративного типу росту. Діагноз підтверджено рентгенологічним, ендоскопічним, патоморфологічним методами дослідження. При ЕПР-спектрометрії комплексів NO-Hb величина його рівня склала 5,1. Під час хірургічного втручання виявлено пухлину шлунку, що локалізувалась в нижній і середній третині органу і вросла в підшлункову залозу, множинні метастази у великий сальник, печінку, по висцеральній і парієтальній очеревині. У зв'язку з розповсюдженістю ракового процесу операція закінчилась пробною лапаротомією. В післяопераційному періоді - шлункова кровотеча, яка була зупинена консервативними заходами. На 21 добу після пробної лапаротомії хворий виписаний із стаціонару. Заключний діагноз: рак шлунку $T_4N_2M_1$. Помер через 4 місяці після виписки зі стаціонару

Приклад №3. Хворий К-о, історія хвороби №2236, 63 років, поступив в стаціонар 11.03.01 року зі скаргами на больові відчуття в лівій половині живота, втрату сили, загальну слабкість, наявність зміненої крові в стільці. При обстеженні виявлено рак дистальної третини поперекової ободової кишки, що був підтверджений рентгенологічно, ендоскопічно, морфологічно. При ЕПР-спектрометрії комплексів NO-Hb величина його рівня склала 4,6. Хворому виконано хірургічне втручання під час якого виявлено пухлину, розмірами 5х5 см, що проростала серозну оболонку, інфільтрувала великий сальник, множинні метастатичні відсіви по висцеральній і парієтальній очеревині, правій і лівій долях печінки. У зв'язку з розповсюдженістю ракового процесу виконано пробну лапаротомію. Перебіг післяопераційного періоду - без особливостей. Заключний діагноз: рак поперекової ободової кишки $T_4N_1M_1$. Хворий помер від прогресування основного захворювання через 7 місяців після виписки зі стаціонару

Приклад №4. Хвора О-ва, 57 років, історія хвороби №6784, поступила в стаціонар 12.09.01 року зі скаргами на закрепи, кров, слиз в калових масах, втрату сили, загальну слабкість. При обстеженні виявлено рак верньоампулярного відділу прямої кишки. Діагноз підтверджений рентгеноло-

гично, ендоскопічно, морфологічно. При ЕПР-спектроскопії комплексу NO-Hb величина його рівнів склапає 1,6. Хворий виконано хірургічне втручання, під час якого виявлено пухлину, розміром 7х7см, що звужувала просвіт кишки. Виконано черевно-анальну резекцію прямої кишки. Перебіг післяопераційного періоду - без особливостей. Заключний діагноз: рак верхньоампулярного відділу прямої кишки T₃N₀M₀. Хвора пережила 2-річний період спостереження.

Наведені приклади свідчать про інформативність рівнів комплексів NO-Hb в оцінці розповсюдження злоякісного процесу органів шлунково-кишкового тракту на початковому етапі обстеження хворих, що є важливим в подальшому плануванні характеру лікування.

Клінічну апробацію способу проведено на базі кафедри онкології Київської медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика. Дослідження проведені у 27 хворих на рак ободової кишки, 6 - на рак шлунку і 6 на рак прямої кишки. Продемонстровано, що спосіб точний, високоінформатив-

ний, експресний (потребує лише 10-15 хвилин на одне дослідження), пов'язаний з невеликими матеріальними затратами для його виконання. Це свідчить про можливість використання його в клінічній практиці.

Спосіб, що заявляється, забезпечує оцінку розповсюдженості ракового процесу органів шлунково-кишкового тракту до початку лікування, що дає можливість вибрати оптимальний його варіант.

Список літератури

1. Блохин Н.Н., Алиев Б.М., Аюбян Ю.М. и др. Диагностика и лечение рака ободочной и прямой кишки // М. Медицина, 1981 — 254 с.
2. Русанов С.А. Рак желудка // М. Медицина, 1984 — 198 с.
2. Кныш В.И. Рак ободочной и прямой кишок — М. Ирбис, 1997 — 254 с.
3. Чеботарева Э.Д., Шишкина В.В., Славнов В.Н. Радиоиммунологический анализ в онкологии — К. Здоровье, 1984 — 144 с.