



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60184 (13) A

(51) 7 G01N33/48

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

(54) СПОСІБ БІОХІМІЧНОЇ ОЦІНКИ КІСТКОВОГО МЕТАСТАЗУВАННЯ

1

2

(21) 2003021735

(22) 27 02 2003

(24) 15 09 2003

(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р.

(72) Узленкова Наталія Євгенівна, Ненюкова Олена Вікторівна, Сухіна Олена Миколаївна, Тарасова Оксана Миколаївна

(73) ІНСТИТУТ МЕДИЧНОЇ РАДІОЛОГІЇ ІМ. С. П. ГРИГОР'ЄВА АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

(57) 1 Спосіб біохімічної оцінки кісткового метастазування шляхом визначення рівня добової ек-

скреції з сечею метаболітів кісткової тканини, який відрізняється тим, що визначають рівень гідроксипроліну і вміст неорганічного фосфору у сечі, вміст загального кальцію у крові, встановлюють їх конкретні значення і констатують наявність кісткових метастазів

2 Спосіб по п 1, який відрізняється тим, що значення гідроксипроліну складає не менше ніж 448,0 мкмоль/доб, фосфору - 57,6 - 80,0 ммоль/доб, загального кальцію у крові - 3,4 - 4,0 ммоль/л

Винахід належить до медицини, а саме радіології та онкології, і може бути використаний для раннього експрес-діагностики кісткового метастазування

Злоякісні новоутворення складають одну з найважливіших медико-біологічних та соціально-економічних проблем в Україні. У зв'язку з чим спостерігається тенденція до почастищення метастатичних новоутворень у різних органах та системах. У кістки метастазують практично усі відомі злоякісні пухлини, незалежно від локалізації та гістологічної структури.

Нині у медичній практиці застосовують способи променевої діагностики, які залишаються єдиними у прижиттєвому виявленні метастатичних змін кістяка взагалі та хребта зокрема. З метою діагностики його метастатичних уражень використовуються різні методи променевої діагностики, такі як звичайна рентгенографія, рентгеновська томографія, радіонуклідні дослідження, комп'ютерна та магнітно-резонансна томографія [Спузяк Р.М. Променева діагностика метастатичних уражень хребта // Укр. радіол. журн. — 1999 — Т. 7, вип. 3 — С. 304 - 308]. Встановлено, що при метастазах у кістки різних пухлин, остеосцинтиграфія дозволяє виявити до 95% уражених ділянок кістяка та у 30% випадків дає можливість встановити ураження, які не визначалися при звичайному рентгенологічному обстеженні. Безперечною перевагою остеосцинтиграфії [Науменко А.З. і др. Остеотропные радиофармпрепараты в оценке лечения метастатического поражения скелета, Тез. докл. Всесоюз. симпозиум «Радиоизотопная

диагностика опухолей» — Л., 1982 — С. 54 - 56] є можливість раннього визначення метастатичних змін (на 1-6-12 місяців, а іноді на 3 роки раніше, порівняно із рентгенографією).

У якості недоліків цього методу слід визначити його неспецифічність: остеотропні радіофармпрепарати можуть накопичуватися у місцях активного метаболічного процесу при різних станах - пухлинних, запальних, дистрофічних. При цьому, остеосцинтиграфія дозволяє отримати інформацію тільки про зміни органічного матриксу кісток, не стосуючись мінеральної фази.

Разом з цим відомо, що радіологічні фіксовані порушення в структурі кістки є вже наслідком змін у метаболізмі основних компонентів органічного матриксу і мінеральної фази, які виникають при наявності метастазів.

Більшість злоякісних пухлин, особливо епітеліального походження, вибірково активують остеокласти, викликаючи стійкі літичні зміни у кістці [Seibel M.J. Calcium Regulating Hormones and Markers of Bone Metabolism: Measurement and Interpretation — Heidelberg, 1997 — Р. 157 - 170]. Ураховуючи специфічність змін кісткової тканини, виникаючих при розвитку пухлинного процесу, фахівці намагаються розробити чутливі способи їх виявлення, використовуючи найбільш специфічні показники кісткового метаболізму.

Найближчим до способу, що заявляється, за технічною суттю та ефектом, який досягають, є спосіб біохімічної оцінки кісткового метастазування в онкологічних хворих за допомогою визначення біохімічних показників екскреції із сечею структур-

(13) A
(11) 60184
(19) UA

них компонентів колагену І типу пірідіноліна та дезоксипірідіноліна і вмісту у сироватці крові кісткового ізоферменту лужної фосфатази, як специфічних показників резорбції кістки [Любимова Н В, Трапезникова М Ф и др. Значение биохимических показателей сыворотки крови и мочи в качестве маркеров костного метастазирования // Клиническая диагностика — 2000 — № 5 — С 9 - 13]

Проте, визначення вільних пірідінових зв'язків колагену, тобто показників пірідіноліна та дезоксипірідіноліна у сечі, потребує використання трудомістких і дорогих методів імуноферментного та імунохемолюмінесцентного аналізу, що не завжди доступно для будь-якої лабораторії

Таким чином, необхідною умовою для вирішення проблеми забезпечення ранньої діагностики метастатичних ушкоджень кісток є вибір інформативних показників, які відображають порушення метаболізму кісткової тканини при ризикі виникнення метастазів

В основу винаходу поставлене завдання розробити такий спосіб біохімічної оцінки кісткового метастазування, в якому при визначають рівень добової екскреції гідроксипроліну, неорганічного фосфору (P_n) у сечі, загального кальцію (Ca) у крові встановлюють їх конкретні значення і констатують наявність кісткових метастазів. Реалізація способу дасть можливість у 1,2 рази збільшити його чутливість, скоротити термін отримання результатів дослідження до доби, зменшити трудомісткість способу, в 4 рази знизити фінансові витрати на закупівлю реактивів

Поставлене завдання вирішують так у відомому способі біохімічної оцінки кісткового метастазування шляхом оцінки рівня добової екскреції з сечею метаболітів кісткової тканини визначають рівень добової екскреції гідроксипроліну з наступним встановленням вмісту у крові і сечі мінеральних компонентів кісткової тканини - неорганічного фосфору і загального кальцію, та при значенні екскреції з сечею гідроксипроліну у добу не менше ніж 448,0 мкмоль/доб, рівня загального Ca у крові в межах 3,4 - 4,0 ммоль/л, P_n у добовій сечі - 57,6 - 80,0 ммоль/доб констатують наявність кісткових метастазів

Використання показника рівня гідроксипроліну як прогностичного фактору можливо лише при встановленні рівня кальцію і фосфору (у певних межах), що дозволяє забезпечити високий рівень діагностичної оцінки стану метаболізму кісткової

тканини і дає можливість на ранній стадії прогнозувати ризик розвитку кісткових метастазів

Суттєвою відмінною рисою способу, що заявляється, є те, що оцінка рівня кісткового метаболізму проводиться комплексно, з урахуванням показників мінерального матриксу. Відомо, що метаболізм колагену тісно пов'язаний з рівнем мінерального, зокрема кальцієво-фосфорного обміну, тому що існує унікальна властивість колагенових структур спілкуватися з кристалами кальцієво-фосфорних солей, у першу чергу, в органічному матриксі кісткової тканини. Взагалі метаболізм колагену і мінеральних компонентів характеризують тип функціонування та ступінь реактивності кісткових структур

Спосіб здійснюють таким чином при надходженні до стаціонару в онкологічного хворого збирають добову сечу, вимірюють її об'єм, потім беруть із вени кров у кількості 3 мл. В 2 - 3 мл добової сечі за допомогою уніфікованих біохімічних методів [Медицинские лабораторные технологии / Под ред. А. И. Карнищенко — СПб: Интермедтехника, 1999 — Т. II — С. 228 - 229] визначають добову екскрецію гідроксипроліну і фосфору та рівень загального кальцію у крові

Якщо значення показників відповідають таким згідно способу, що заявляється, тобто гідроксипроліну на добу не менше 448,0 мкмоль/доб, фосфору у межах - 57,6 - 80,0 ммоль/доб, кальцію у межах 3,4 - 4,0 ммоль/л, то встановлюють наявність поодиноких або множинних метастазів у кісткову систему. У 84,4% випадків встановлюють наявність процесу метастазування. Результати встановлення наявності процесу метастазування або ризику виникнення підтверджуються проведеннями радіологічними обстеженнями онкологічного хворого (табл. 1)

Нижче наводимо конкретні приклади реалізації способу біохімічної оцінки кісткового метастазування, який пропонується

Приклад 1. Хвора Б., Іх № 25826, рак грудної залози. Знаходячись на плановому лікуванні у клініці ІМП АМНУ на момент обстеження мала скарги на біль у спині. При проведенні біохімічного аналізу стану метаболізму кісткової тканини у хворої виявлено рівень виведення гідроксипроліну із сечею 629,2 мкмоль/доб, фосфору - 74,2 ммоль/доб і вміст загального кальцію в крові складав 3,67 ммоль/л, що дозволило передбачити наявність

Таблиця 1

Результати підтвердження наявності метастазів, встановлених згідно способу, що заявляється

Показник	Кіл-сть хворих	Результати виявлення метастазів способом, що заявляється		Результати верифікації радіологічним методом		Чутливість (%)
		є	є	є	немає	
Гідроксипролін сечі (мг/доб)	58	448,4 - 815,3 (675,0 ± 45,3)	194,6 - 418,5 (274,6 ± 33,0)	49	9	84,4
Ca крові (ммоль/л)	62	3,4 - 4,0 (3,6 ± 0,08)	2,2 - 3,2 (3,2 ± 0,07)	"-	"-	79,0
P_n Сечі (мг/доб)	62	57,6 - 80,0 (76,8 ± 5,2)	25,6 - 51,2 (44,8 ± 3,8)	"-	"-	79,0

метастазів у кісткову систему. Проведення рентгенографії і КТ дослідження підтвердило наявність множинного метастатичного ураження хребта у ділянці L1-S1.

Приклад 2. Хворий Р, Іх № 26293, рак передміхурової залози. При первинному обстеженні і визначенні комплексу біохімічних показників були виявлені значення екскреції гідроксипроліну - 579,2 мкмоль/доб, фосфору - 70,4 мкмоль/доб і вмісту кальцію в крові - 3,6 мммоль/л.

При проведенні через 3,5-й місяці остеосцинтиграфії було виявлено осередок метастазування у тазові кістки.

Приклад 3. Хвора Т, Іх № 34628, мієломна хвороба. Надійшла до клініки для обстеження і лікування. При біохімічному дослідженні виявлено значення рівня кальцію в крові - 3,8 мммоль/л, екскреції фосфору з сечею - 73,6 мммоль/доб - і гідроксипроліну - 530,7 мкмоль/доб.

Проведення остеосцинтиграфії з ^{99m}Tc пірофосфатом виявило осередок підвищеного накопичення радіофармпредпарату у проекції поперекового відділу хребта L₁₋₅ і було зроблено висновок про наявність метастатичного ураження хребта.

Приклад 4. Хвора М, Іх № 28082, рак грудної залози. Знаходилася у клініці ІМР АМНУ під час проведення курсів променевої і хемотерапії після радикальної мастектомії. При первинному біохімічному обстеженні виявлені значення показників кальцію в крові - 3,4 мммоль/л, фосфору - 67,2 мммоль/доб і загальної екскреції гідроксипроліну з сечею - 533,0 мкмоль/доб. Незважаючи на підвищені значення біохімічних показників при проведенні рентгенографії осередкового ураження кісткової системи не було виявлено. При повтор-

ному знаходженні хворої у клініці для продовження курсу лікування через 4,5-й місяця значення біохімічних показників складали відповідно вміст кальцію в крові - 3,7 мммоль/л, фосфору у сечі - 70,5 мммоль/доб і виведення гідроксипроліну - 640,5 мкмоль/доб, що свідчить про наявність метастазування. При проведенні остеосцинтиграфії було підтверджено осередок метастазування у верхній третині стегнової кістки.

Приклад 5. Хвора К, Іх № 24165, рак грудної залози. Знаходилася у клініці ІМР з приводу проведення курсів променевої і хемотерапії після радикальної мастектомії. Значення біохімічних показників при обстеженні складали Са крові - 2,9 мммоль/доб, гідроксипролін сечі 321,0 мкмоль/доб, фосфор сечі 42,0 мммоль/доб. При проведенні рентгенографії і остеосцинтиграфії ознак осередкового ураження кісткової системи не було виявлено.

Спосіб, що заявляється, дозволяє здійснювати ранню діагностику порушень кісткового метаболізму, які передують деструктивним метастатичним змінам (табл. 2).

Як свідчать дані, наведені у таблиці 2, з 49 первинно обстежених хворих з високими значеннями біохімічних показників, наявність метастазів у кістку при повторному обстеженні через 3 місяці констатували у 43 хворих проти 35 за даними рентгенологічного обстеження. Взагалі, у 8 хворих (від загальної кількості обстежених), діагноз метастатичного ураження кістяка за результатами інструментального обстеження виставлено, в середньому, на 3,5 - 5,5 місяців пізніше.

Таблиця 2

Можливості раннього виявлення метастазів способом, що заявляється, та рентгенологічним

Термін обстеження хворого	Кіл-сть хворих з метастазами у кісткову систему згідно способу, що заявляється			Кіл-сть хворих з метастазами у кісткову систему, виявленими рентгенологічно		
	є	немає	раннє виявлення, %	є	немає	раннє виявлення, %
Через 3 місяці після первинного обстеження (n = 49)	43	6	87,7%	35	14	71,4%
Через 6 місяців після первинного обстеження (n = 49)	49	-		49	-	

Для доказу переваг способу біохімічної оцінки кісткового метастазування, що заявляється, було проведено порівняльний аналіз даного способу (58

хворих) з прототипом (96 хворих), який виявив ряд переваг першого (табл. 3).

Таблиця 3

Порівняльний аналіз ефективності способу, що заявляється, і прототипу

Найменування показника	Спосіб біохімічної оцінки кісткового метастазування	
	за прототипом n = 96	що заявляється, n = 58
Чутливість (кількість позитивних результатів), %	73,4	84,4
Вартість наборів реактивів, грн імуноферментного та імунохемолюмінесцентного аналізу в 96 пробах загальна вартість реактивів для проведення 100 досліджень	1200,00 грн	250,00 - 300,00
Наявність дорогого обладнання	так	ні
Трудомісткість способу	так	ні
Термін проведення реалізації способу, доби	2 - 3	1

Як свідчать дані, наведені у таблиці 3, впровадження способу біохімічної оцінки кісткового метастазування, що заявляється, у практику біохімічних лабораторій онкологічних та радіологічних закладів дозволить

- забезпечити можливість встановлення метастатичних процесів у кісткову тканину на 4 місяця

раніше,

- у 1,2 рази збільшити чутливість способу,
- скоротити термін одержання результату досліджень до доби,
- знизити трудомісткість способу,
- у 4 рази знизити фінансові витрати на закупівлю реактивів