



УКРАЇНА

(19) UA (11) 77549 (13) C2

(51) МПК (2006)

A61B 8/08

A61B 10/02

G01N 1/04

G01N 33/49

G01N 33/52

G01N 33/58

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЗЛОЯКІСНОГО ПУХЛИННОГО РОСТУ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ

1

(21) 20041210992

(22) 30.12.2004

(24) 15.12.2006

(46) 15.12.2006, Бюл. № 12, 2006 р.

(72) Владіміров Віталій Олександрович

(73) Владіміров Віталій Олександрович

(56) UA C2 67765 15.07.2004

Суслов Е.И., Галахин К.А., Владимиров В.А. и др.
Скрининг злокачественных новообразований с
использованием нового метода маркерной диаг-
ностики "Онкотеста" // Врачебное дело. - 1997. - Т.
1 (1029) - С. 99-102.

UA C2 19696 25.12.1997

WO 94/14071 23.06.1994

(57) 1. Спосіб діагностики злоякісного пухлинного
росту в організмі людини за оптичною щільністю
сироватки крові, що включає додання до
досліджуваної сироватки стабілізатора у
співвідношенні 1:10, з подальшим послідовним з
інтервалом у часі доданням до стабілізованої си-
роватки розчину трилону Б, ліофілізованої

2

донорської сироватки крові та розчину азотнокис-
лого срібла у співвідношенні 110:1:1:1,
опромінення денним світлом і зупинку реакції
шляхом введення стабілізатора у дозі, що стано-
вить половину від первинної, аналіз кривих
оптичної щільності сироватки в діапазоні 360-500
нм, за результатами якого, якщо пік оптичної
щільності знаходиться в інтервалі діапазону 390-
420 нм, від значення оптичної щільності сироватки
на вершині піка віднімають значення оптичної
щільності при 364 нм, якщо пік знаходиться в
інтервалі діапазону 420-500 нм, значення оптичної
щільності при 364 нм віднімають від значення
оптичної щільності у основі піка, і коли одержаний
показник є від'ємним числом або ж спостерігається
лінійна обернено пропорційна залежність, судять
про відсутність злоякісної пухлини, коли показник
дорівнює або більше нуля - про її наявність.

2. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що
дослідження оптичної щільності сироватки прово-
дять з інтервалом в 1-2 нм.

Даний винахід відноситься до медицини, а са-
ме до клінічної лабораторної діагностики і призна-
чений для виявлення злоякісного пухлинного рос-
ту в організмі людини незалежно від місця його
виникнення і гістологічної будови.

Відомі способи визначення в сироватці крові
окремих маркерів злоякісного пухлинного росту, в
основі яких є імуноферментні реакції взаємодії
антигену та антитіла.

На даний час вже відомо понад 100 різних
маркерів пухлинного росту. Одна і та ж сама пух-
лина може виділяти декілька маркерів. І навпаки –
підвищення рівня характерного для даної пухлини
маркера, навіть при її наявності може зовсім не
відбуватися. Тому визначення рівня найбільш
відомих пухлинних антигенів застосовується не

для первинної діагностики раку, а для спостере-
ження за перебігом захворювання після лікування
з метою оцінки його ефективності та своєчасного
виявлення рецидивів та метастазів. [Pamies RJ,
Crawford DR : Tumor Markers. An Update. The medi-
cal clinics of North America. 80 (I): 185-199, 1996].

Емпіричним шляхом, спочатку при дослідженні
мазків, а потім сироватки крові авторами було до-
ведено існування в крові онкологічних хворих
специфічних речовин (кальцій-білкових
комплексів - КБК), які з'являються вже на початко-
вих стадіях злоякісного росту, незалежно від
локалізації і гістологічної будови пухлини.

3 [патента № 67765 "Спосіб діагностики
злоякісних пухлин людини - CST (CANCER
SCREENING TEST)] відомий спосіб виявлення КБК

(13) C2

(11) 77549

(19) UA

в сироватці крові обстежуваного. Він полягає в тому, що КБК, які присутні в сироватці крові онкологічного хворого фіксуються на молекулі комплексу, потім зв'язуються з імуноглобулінами донорської сироватки по типу антиген-антитіло і врешті проявляються за рахунок взаємодії з азотнокислим сріблом, шляхом зміни коефіцієнтів співвідношення оптичної щільності сироватки з реактивами та без реактивів.

У вказаному способі (CST), в якості одного з реагентів тест-системи, використовувалась свіжа донорська сироватка. Вона мала короткий термін зберігання. У зв'язку з цим, було необхідно кожні 3-5 днів отримувати нові порції сироватки від різних донорів. Іноді траплялось так, що серед цих донорів були люди, які перед забором крові приймали якісь ліки, або алкоголь, чи наркотики. Тому, використання їхньої сироватки в якості реактиву, призводило до помилково-позитивних результатів.

За кілька років застосування було виявлено ряд недоліків методу, які не дають можливості його широкого втілення в клінічну лабораторну практику. До недоліків, виявлених у процесі досліджень CST належать наступні:

1. Технічна неможливість фотометричного дослідження сироватки у 20-30 відсотків обстежуваних, у зв'язку з її високою оптичною щільністю.

2. Незручності при застосуванні та іноді помилкові результати тесту, за рахунок короткого терміну зберігання (2-3 дні) реактиву - донорської сироватки крові.

3. Незручності при необхідності впродовж дня обстежити більше 50 хворих, за рахунок короткого терміну зберігання їх сироватки крові (не більше 3х годин після отримання).

4. Помилкові результати тесту, за рахунок неможливості зупинити реакцію зміни оптичної щільності сироватки після завершення опромінення.

5. Помилкові результати тесту в зв'язку з наявністю у 40% хворих змін оптичної щільності не в інтервалі 400-4 Юнм, а в більш широкому діапазоні - від 390 до 420 нм, а також поява додаткових піків в інших діапазонах.

6. Відсутність єдиного стандартизованого і сертифікованого набору (тест-системи) реагентів для виконання способу.

З метою усунення вищевказаних недоліків була поставлена задача розробити нову спосіб виявлення КБК, який отримав назву - "Онкотест-2".

Поставлена задача вирішується запропонованим способом діагностики злоякісного пухлинного росту в організмі людини за оптичною щільністю сироватки крові, що включає додання до досліджуваної сироватки стабілізатора у співвідношенні 1:10 з подальшим, послідовним з інтервалом у часі доданням до стабілізованої сироватки розчину трилону Б, ліофілізованої донорської сироватки крові та розчину азотнокислого срібла у співвідношенні 110:1:1:1, опромінення денним світлом і зупинку реакції шляхом введення стабілізатора в дозі, що становить половину від первинної, аналіз кривих оптичної щільності сироватки в діапазоні 360-500 нм, за результатами якого, якщо пік оптичної щільності знаходиться в інтервалі діапазону 390-

420 нм, від значення оптичної щільності сироватки на вершині піка віднімають значення оптичної щільності при 364 нм, якщо пік знаходиться в інтервалі діапазону 420-500 нм, значення оптичної щільності при 364 нм віднімають від значення оптичної щільності в основі піка, і коли одержаний показник є від'ємним числом або ж спостерігається лінійна оберненопропорційна залежність, говорять про відсутність злоякісної пухлини, коли показник дорівнює або більше нуля - про її наявність. Крім того, дослідження оптичної щільності сироватки проводять з інтервалом в 1-2 нм.

Цей спосіб діагностики дозволяє виявити в сироватці крові специфічні білкові комплекси за допомогою уніфікованої тест-системи "Онкотест-2". Ця система на відміну від попереднього способу CST, у якому застосовувалось 3 реагенти, включає 4 різних реактиви: стабілізатор сироватки, розчин комплексу, висушену за допомогою ліофільної сушки донорську сироватку крові і розчин азотнокислого срібла.

Згідно з винаходом, у попередньо розведену стабілізатором сироватку крові обстежуваного, з 10-хвилинним інтервалом вводять розчин комплексу, донорську сироватку та розчин азотнокислого срібла, потім опромінюють денним світлом, і додають ще 1 мл стабілізатора з метою зупинки реакції. Результат визначають за допомогою аналізу кривих оптичної щільності, отриманих при порівняльній фотометрії сироватки в діапазоні 360-500 нм.

Згідно зі способом сироватку обстежуваного перед виконанням реакції розводять стабілізатором у співвідношенні 1:10, а співвідношення останніх реактивів тест-системи до отриманого розчину становить 1:100.

Сироватка, що обстежується, може зберігатися при температурі нижче -20°C протягом 3 діб.

Згідно з винаходом (Онкотест-2), замість свіжої сироватки використовують висушену за допомогою ліофільної сушки сироватку, що має термін зберігання до 2-х років. Ця сироватка береться 1-2 рази на рік, у попередньо обстежених і повністю здорових донорів. Перед ліофільною сушкою свіжа донорська сироватка перевіряється на діагностичну ефективність в реакції "Онкотест-2" шляхом обстеження пацієнтів з відомими онкологічними та іншими захворюваннями. Ліофільна сушка перевіреної партії сироватки виконується в стерильних пробірках Еппендорфа в об'ємі 1 мл. Перед використанням у суху сироватку також додається 1 мл стабілізатора.

Результат реакції за винаходом може бути отримано тільки після порівняльного сканування сироватки з реактивами проти сироватки без них в діапазоні 360 - 500 нм, із шагом у 1-2 нм.

Згідно зі способом діагностики злоякісного росту в організмі людини - "Онкотест-2", відповідно до запропонованого винаходу до сироватки крові досліджуваного послідовно з інтервалом в 10 хв. додають розчин комплексу, донорську сироватку крові та розчин азотнокислого срібла та відрізняється тим, що 0,2 мл сироватки обстежуваного попередньо розводять 2 мл розчину стабілізатора, додають до неї послідовно

стандартизовані компоненти тест-системи у співвідношенні 1:100: трилон Б, розведену стабілізуючим розчином висушену донорську сироватку крові та розчин азотнокислого срібла. Ще одну пробірку з розведеною аналогічно сироваткою обстежуваного, але без додавання реактивів, залишають як контроль. Після опромінення впродовж години штучним денним світлом, у сироватку з реагентами і в контрольну додають по 1 мл стабілізатора. За допомогою спектрофотометра, з'єднаного з комп'ютером, проводять вимірювання оптичної щільності сироватки з реагентами відносно контролю в діапазоні від 360 до 500 нм, з шагом у 1-2 нм. При цьому отримують характерні криві оптичної щільності, аналіз яких дозволяє визначити результат реакції. У пацієнтів, що не мають злоякісного пухлинного росту, графік має вигляд кривої лінійної залежності, на якій попередній рівень оптичної щільності завжди вищий за наступний (фіг. 1).

Криві при позитивному результаті завжди мають виражені піки оптичної щільності (Фіг. 2-3).

Чисельний вираз позитивного тесту - це різниця між показниками оптичної щільності на вершині піку й на його основі. Результат позитивного тесту завжди більше за нуль. (Нуль також вважається позитивним результатом).

Найчастіше піки оптичної щільності утворюються в інтервалі 390-420 нм, але можуть бути і в інших діапазонах спектру. Нерідко мають місце два, або більше піків. У цьому випадку результат обчислюється за показниками найбільшого (Фіг. 2-4).

За відсутності КБК крива оптичної щільності сироватки обстежуваного не відрізняється від контролю і має лінійну залежність, тобто кожний попередній показник більший за наступний (Фіг. 1,5). Результат тесту в таких випадках є різницею між показником оптичної щільності на 364 нм і на 400 нм і має завжди від'ємний знак.

Дослідним шляхом встановлено, що на реакцію "Онкотест-2" впливають порядок і терміни зберігання сироватки крові пацієнта, ступінь її розведення стабілізуючим розчином, кількісне співвідношення при введенні реактивів тест-системи, як між собою так і сироваткою, діагностична якість донорської сироватки, об'єм стабілізатора, що додається в сироватку після опромінення, а також методика виконання фотометрії і особливості аналізу її результатів.

Сироватка крові обстежуваного має бути отримана не пізніше, ніж через 2 години після взяття крові за допомогою центрифуги, на обертах не більших за 2 тис. на хв., протягом 10-15 хв. Більш високі оберти призводять у деяких пацієнтів до гемолізу еритроцитів. Гемолізована або хильозна сироватка не придатна для реакції. Сироватка може зберігатися до початку реакції при температурі 4-6°C - 3 години, при температурі - 25°C - до 3 діб. Порушення вказаних максимальних строків збереження сироватки призводить до помилково-позитивних результатів тесту.

Перед початком введення реактивів тест-системи сироватку досліджуваного обов'язково потрібно розвести стабілізуючим розчином у співвідношенні 1:10. Це на 20-30% підвищує

інформативність реакції і в 10 разів зменшує необхідну кількість сироватки й реагентів. Якщо не розводити сироватку, її оптична щільність у багатьох хворих буде перевищувати технічні можливості фотометрії спектрофотометра.

Реагенти тест-системи стандартизовані таким чином, що їх кількісне співвідношення до розчину сироватки крові обстежуваного має бути 1:1:1. Оптимальна кількість кожного реагенту по відношенню до розчину сироватки має бути 1:100. Збільшення або зменшення кількості реактивів, що додаються у сироватку, або зміна їх співвідношення між собою призводить до отримання помилково-позитивних або помилково-негативних результатів реакції.

Донорська сироватка крові, що є одним з реактивів тест-системи, готується шляхом змішування сироваток 0(1)Rh + групи крові, взятих у 1-2 здорових чоловіків і 1-2 здорових жінок. Щоб уникнути можливостей впливу на результат реакції "Онкотест-2" особливостей донорських сироваток або не визначених захворювань донорів, виконується тестування пулу донорських сироваток за методикою "Онкотест-2" у пацієнтів зі встановленими онкологічними і не онкологічними захворюваннями. Якщо результати тесту і діагноз захворювання співпадає, перевіреним сироватку розливають у пробірки Еппендорфа по 1 мл і піддають ліофільній сушці. Перед використанням суху сироватку розводять 1 мл стабілізатора. Термін використання 3 дні. Зберігати при температурі 4-6°C. Одного флакона ліофілізованої сироватки достатньо для обстеження 50 пацієнтів.

Стабілізатор, що додається до сироватки обстежуваного після опромінення, призначений для зупинки реакції. Як показали дослідження, оптимальне співвідношення стабілізатору до сироватки після опромінення має бути 1:2. Якщо не додавати стабілізуючий розчин, оптична щільність сироватки під впливом реагентів продовжує змінюватись, що призводить у 40% випадках до отримання помилково-позитивних результатів. Якщо додати більше стабілізатора результат реакції часто стає помилково-негативним.

Для отримання достовірних результатів методу "Онкотест-2" необхідно використовувати сучасні спектрофотометри, в яких є можливість безперервного сканування сироватки в діапазоні 360-500 нм, поєднані з комп'ютером і поставлені програмним забезпеченням, яке дозволяє отримувати графіки кривих оптичної щільності і вимірювати її показники. Дослідним шляхом встановлено, що негативний результат тесту встановлюється тільки тоді коли протягом усієї кривої відсутні піки оптичної щільності.

У попередньому винаході CST позитивний результат реакції визначали тільки при появі піків оптичної щільності в інтервалі 400-410 нм, що було причиною частих помилок тесту. Це можна бачити на прикладі наступної кривої.

Якщо оцінювати результат цієї реакції за попереднім винаходом CST, то він має бути негативним, бо оптична щільність сироватки в даного хворого в інтервалі 400-410 нм нижча, ніж на 364 нм. Насправді, як видно на малюнку, крива має додатковий пік оптичної щільності на 440 нм, що

свідчить про наявність у хворого злоякісної пухлини. Дані, що підтверджують можливість здійснення

винаходу, представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Назва параметрів, що досліджуються	Кількісні показники	Параметри, що характеризують результат Тест негатив. Тест позитив.
1. Термін зберігання сироватки обстежуваного при температурі нижчій за -20 С	до 3 діб більше 3 діб	+ +* Тест помилково-позитивний
2. Об'єм стабілізатора, що додається до сироватки обстежуваного перед початком реакції.	Не додається Додається менше ніж 1:10 Додається 1:10 Додається більше 1:10	У 20-30% тест не інформат. Тест помилково-позитивний + + Тест помилково-негативний
3. Об'ємне відношення дози стабілізатора, що додається для зупинки реакції, до його первинної дози	Не додається, або додається менше ніж 1:2 Додається 1:2 Додається більше 1:2	Тест помилково позитивний + + Тест помилково-негативний
4. Об'ємне відношення дози кожного з реактивів до досліджуваної вихідної сироватки	1:50 1:10 1:15 і більше	Тест помилково позитивний + + Тест помилково-негативний
5. Діапазон спектру, на якому аналізується оптична щільність сироватки досліджуваного	364, 400-410нм 360 - 500нм 500 - 700нм	Тест помилково-негативний + + Результат не інформативний

** - означає достовірний результат тесту

Найкращий спосіб здійснення тесту:

Беруть тест-систему "Онкотест-2", у якій знаходиться : стабілізуєчий розчин, розчин трилону Б, ліофілізована сироватка крові і розчин азотно-кислого срібла.

З вени обстежуваного набирають 3-5 мл крові. Центрифугують на обертах 1500-2000 на хв. Отримують сироватку. В двох пробірках розводять по 0,2 мл сироватки 2 мл стабілізатора. Одну пробірку залишають в якості контролю, а в іншу послідовно з інтервалом у 10 хв. додають по 0,02 мл трилону Б, сироватки розведеної 1 мл стабілізатора і розчину азотно-кислого срібла. Дослідну і контрольну пробірки розміщують поряд під опромінення штучним денним світлом (2-2,5 тис. люкс) впродовж 1 години. Потім до кожної пробірки додають по 1 мл стабілізатора і знімають криву оптичної щільності досліді відносно контролю в діапазоні 360-500 нм з шагом в 1-2 нм.

Якщо крива має лінійну залежність, тобто піки оптичної щільності відсутні, результат вважається негативним, що свідчить про відсутність у обстежуваного злоякісного пухлинного росту. При появі піків оптичної щільності - результат розцінюється, як позитивний, тобто у обстежуваного з великою ймовірністю є злоякісне новоутворення.

В чисельному вимірі результат тесту отримують або відніманням від значення оптичної щільності сироватки на вершині піка значення на 364 нм., якщо пік оптичної щільності з'являється в інтервалі 390-420 нм, або рівня оптичної щільності у його основі, якщо піки утворюються в подальшому діапазоні у межах 500 нм. При відсутності злоякісної пухлини показник тесту – від'ємне число, при її наявності - тест стає більше 0.

Для кращого розуміння винаходу наводяться приклади конкретного виконання способу.

Приклад 1

В лабораторію направлено 5 мл крові пацієнта К. з підозрою на злоякісну пухлину легенів.

Шляхом центрифугування (1500 об./хв.) була отримана сироватка, по 0,2мл якої розлито у 2 пробірки. В кожену додано 2мл стабілізатору. В першу пробірку з інтервалом у 10хв. послідовно добавлено реагенти тест-системи -розчин трилону Б, розведена ліофілізована донорська сироватка і розчин азотно-кислого срібла. Через годину після засвічування пробірок під штучним денним світлом, для гальмування реакції в кожену пробірку додано по 1мл стабілізатора. За допомогою спектрофотометра Solar PV 1251С знята крива оптичної щільності дослідної сироватки відносно контролю в діапазоні 360 -500нм (фіг.5).

Отримана крива має лінійну залежність, що свідчить про відсутність в організмі обстежуваного злоякісного пухлинного росту. Для спрощення розрахунків показники оптичної щільності множаться на 1000. Результат реакції обчислюється шляхом відніманням від величини оптичної щільності на 398 нм (0,0723x1000=72,3) її значення на 364 нм (0,0868x1000=86,8) і становить (-11,8). Після дообстеження і хірургічного лікування остаточної діагноз хворого - ехінокок правого легена.

Приклад 2

Пацієнтка Ф. звернулася для обстеження за методом CST з профілактичною метою. Враховуючи, що вона звернулася у другій половині дня перед закриттям лабораторії, приїхала з іншого міста і не могла здати кров наступного ранку, бо мала їхати додому, було вирішено взяти кров і отримати сироватку, а тест провести наступного дня. Сироватка була заморожена до -25 С. Вранці її розморозили і провели реакцію CST згідно технології попереднього патенту.

$D_{364}=0,032$, $D_{max400-410}=0,041$

$$\text{Дрез} = \frac{\text{Дmax } 400 - 410}{\text{Д364}} = \frac{0,041}{0,032} = 1,3$$

Коефіцієнт склав 1,3, що свідчило про наявність у обстежуваної злоякісного пухлинного росту.

Враховуючи відсутність скарг і молодий вік (27 років) обстежуваної, вирішено зробити додаткове обстеження за методом "Онкотест-2".

Залишки сироватки по 0,2 мл в двох пробірках розвели двома мл стабілізатора у кожній. Одну пробірку залишили в якості контролю, а в іншу послідовно з інтервалом у 10 хв. додали реактиви тест-системи: по 0,02 мл трилону Б, донорської сироватки розведеної 1 мл стабілізатора і розчину азотнокислого срібла. Дослідну і контрольну пробірки опромінювали штучним денним світлом (2-2,5 тис. люкс), впродовж 1 години. Потім до кожної пробірки додали по 1 мл стабілізатора і за допомогою спектрофотометра Solar PV 1251C зняли криву оптичної щільності дослідну відносно контролю в діапазоні 360-500 нм із шагом в 1 нм. (Фіг.6).

Отримана крива має лінійну залежність. Результат реакції обчислюється шляхом віднімання від величини оптичної щільності на 400 нм (0,0452x1000=45,2) її значення на 364 нм (0,0498x1000=49,8) і становить (-4,6). При контрольному обстеженні цієї ж самої пацієнтки через рік показник становив (-4,8).

Приклад 3

Пацієнтка Л. звернулася для профілактичного обстеження ризику виникнення онкологічного захворювання. В родині у матері і її сестри були злоякісні пухлини статевих органів. Жінка - з 40 кг надлишкової ваги. Вдалося взяти тільки 2мл крові із вени. Після центрифугування отримано 0,5мл сироватки, по 0,2мл якої розлило у 2 пробірки. В кожну додано 2мл стабілізатору. В першу пробірку з інтервалом у 10хв. послідовно добавлено реагенти тест-системи - розчин трилону Б, розведену ліофілізовану донорську сироватку і розчин азотнокислого срібла. Через годину після засвічування пробірок під штучним денним світлом, для гальмування реакції в кожну пробірку додано по 1мл стабілізатора. За допомогою спектрофотометра Solar PV 1251C знята крива оптичної щільності дослідної сироватки відносно контролю в діапазоні 360 - 500нм (фіг.7).

Спектрограма утворює 2 піки - на 400 і на 470

нм, що свідчить про наявність у сироватці хворої КБК. Результат реакції обчислюється шляхом віднімання від величини оптичної щільності на 400 нм (0,0612x1000=61,2) її значення на 364 нм (0,0529x1000=52,9) і становить (8,3). Після дообстеження у хворої знайдено рак тіла матки.

Приклад 4

В лабораторію надійшло Юмл крові хворого С., у якого при рентгенологічному обстеженні виявлена пухлина правої нирки. Отриманої кількості сироватки було достатньо, щоб зробити обстеження за методом CST. Після проведення реакції згідно технології попереднього винаходу і фотометрії на апараті КФК-2, отримано наступний результат:

$$\text{Д364}=0,058, \text{Дmax}400-410=0,057$$

$$\text{Дрез} = \frac{\text{Дmax } 400 - 410}{\text{Д364}} = \frac{0,057}{0,058} = 0,98$$

Згідно попереднього винаходу CST, результат тесту менший за одиницю враховується, як негативний. Вирішено перевірити отримані данні і зробити обстеження за методом "Онкотест-2".

Залишок сироватки по 0,2мл в кожну пробірку, розвели 2мл стабілізатора і послідовно з інтервалом у 10хв. в дослідну пробірку добавили по 0,02мл кожного реактива тест-системи. Після одногодинного опромінювання штучним денним світлом у кожну пробірку добавили по 1 мл стабілізатора і за допомогою спектрофотометра Solar PV 1251C зняли криву оптичної щільності дослідну відносно контролю в діапазоні 360-500 нм з шагом в 1 нм. (Фіг.8).

Отримана крива оптичної щільності має пік на 395нм, який не міг бути виявлений за методикою CST. Оптична щільність піка дорівнює 0,0599, а на 364нм - 0,0582. Для спрощення розрахунків величини оптичних щільностей множимо на 1000 і від щільності піка віднімаємо щільність на 364нм: 59,9 - 58,2 = 1,7. Тобто результат тесту позитивний, що свідчить про наявність у хворого злоякісної пухлини.

Після операції, результат гістологічного дослідження пухлини - світлоклітинний рак нирки.

З метою вивчення діагностичних можливостей винаходу "Онкотест-2", в якості методу скринінгу злоякісних пухлин нами проаналізовані результати використання способу при обстеженні пацієнтів, що звернулись до лабораторії в продовж 2002р.

Таблиця 2

Данні про скринінг онкологічних захворювань з використанням методу "Онкотест-2"

Контингент обстежуваних	Число обстежуваних	Результати			
		ІН	ІП	ПП	ПН
Практично здорові люди	12	12			
Вагітні	4	3		1	
Хронічні запальні захворювання	91	83		8	
Гострі запальні захворювання	3	2		1	
Аутоімунні захворювання	6	2		4	
Ендокринні захворювання	35	29		6	
Доброякісні пухлини	58	51		7	
Злоякісні пухлини до лікування	25		20		5

Контингент обстежуваних	Число обстежуваних	Результати			
		ІН	ІП	ПП	ПН
Онкологічні хворі після радикальних операцій (III кл. гр.)	17	11		6	
Хворі з рецидивами та метастазами	13		11		2
Інші, не онкологічні захворювання	25	23		2	
Загалом:	289	21 6	31	35	7

Діагностична інформативність способу визначалась за Таблицею 2 [Власов В.В.: Эффективность диагностических исследований // М. "Медицина", 1988, 200стр.].

Таблиця 3

		Позитивний (+)		Негативний (-)
Результат онкотеста	Позитивний(+)	Істино позитивний (ІП)	Помилково позитивний (ПП)	Прогностичність позитивного результату (П+) ІП/ІП+ПП)
	Негативний(-)	Помилково негативний (ПН)	Істино негативний (ІН)	Прогностичність негативного результату (П-) ІН/(ПН+ІН)
		Чутливість ІП/(ІП+ПН)	Специфічність ІН/(ПП+ІН)	Поширеність (ІП+ПН)/(ІП+ПП+ПН+ІН)

Отримані результати наведені в таблиці 4.

Таблиця 4
Результати скринінгу онкологічних захворювань з використанням методу "Онкотест-2".

Всього обстежено = 289	
Чутливість = 81,6%	пп = 35
	іп = 31
Специфічність = 86,1%	пн = 7
	ін = 216
Поширеність = 13,2 %	п+ = 47%
	п- = 96,9%

Запропонований спосіб стосовно до раніше відомих має переваги, які полягають:

- у можливості зберігати сироватку обстежуваного протягом 3-х діб до проведення реакції,
- у зниженні в 10 разів мінімального об'єму необхідної для дослідження сироватки,
- у створенні уніфікованої і стандартизованої тест-системи "Онкотест-2" з тривалим терміном зберігання, за рахунок дрібного розподілу (по 1 мл) і ліофільному висушуванню донорської сироватки крові,

у зменшенні кількості помилок в результатах тесту завдяки:

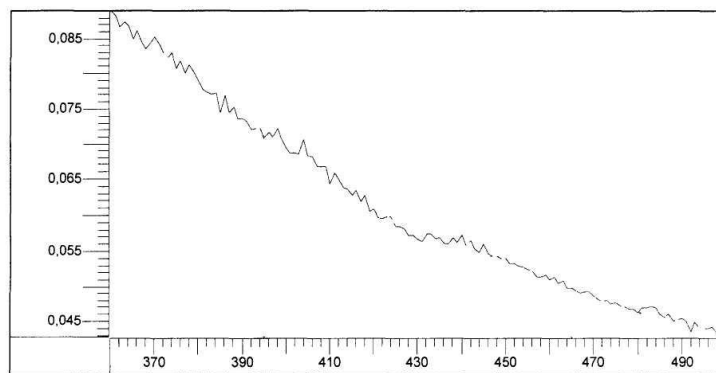
- а) введенню в сироватку до початку прове-

дення реакції і після опромінення зразків стабілізуючого розчину,

б) використанню як реактиву тест-системи донорської сироватки, діагностична ефективність якої попередньо перевірена в онкологічних і інших хворих,

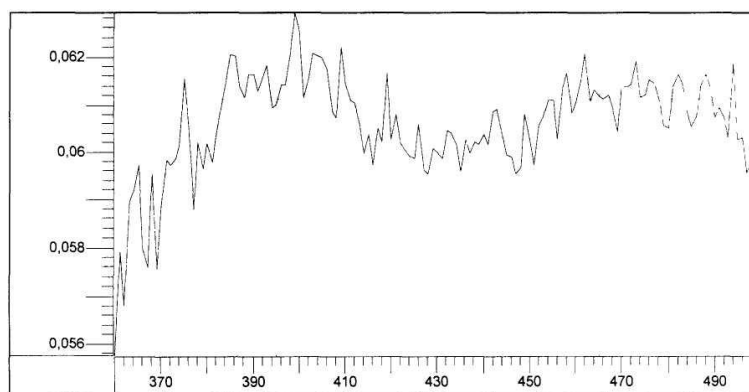
в) аналізу не фіксованих показників оптичної щільності сироватки, а широкого діапазону видимого спектру (360 -500нм).

З позиції теорії статистичних рішень [Файнзильберг Л.С. К вопросу о полезности диагностических методов в задачах скрининга // Управляющие системы и машины. 2002.-№6. - с. 10-17.], а також даних національного канцер-реєстру України (Бюлетень національного канцер-реєстру України №4 // 2003.-<http://www.i.com.ua/ucr>), було доведено, що скринінгове обстеження за методом "Онкотест-2", для ранньої діагностики раку є корисним у віковій категорії від 45 до 65. років. Таких людей в Україні нараховується 18 млн. Тому запропонований спосіб визначення злоякісного пухлинного росту в організмі людини під назвою "Онкотест-2" є ефективним і може бути покладений в основу Національної Програми зниження смертності від онкологічних захворювань.



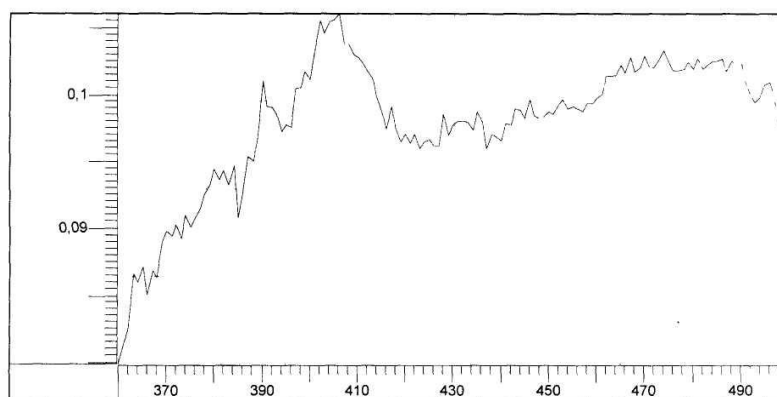
Крива оптичної щільності здорової людини

ФІГ. 1



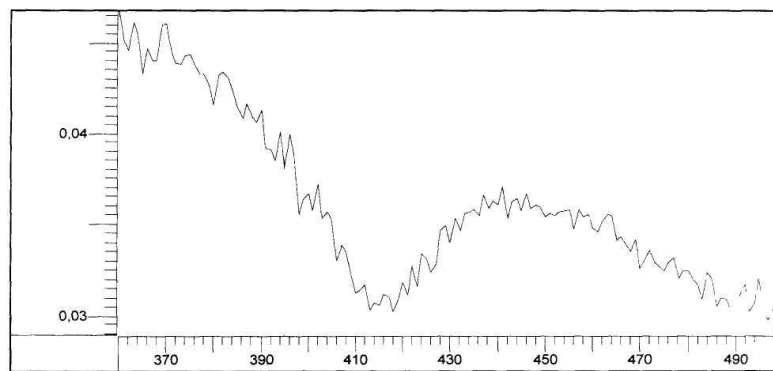
Крива оптичної щільності хворого рак молочної залози

ФІГ. 2



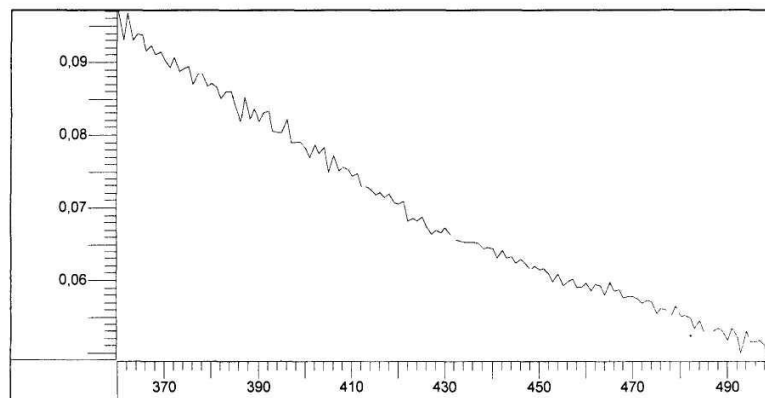
Крива оптичної щільності хворої на рак прямої кишки

ФІГ. 3



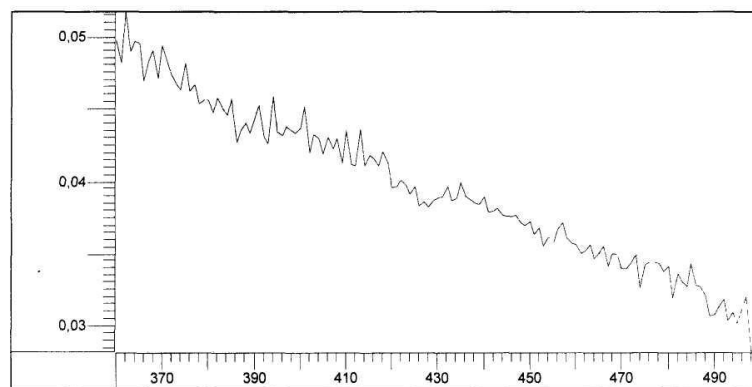
Крива оптичної щільності сироватки хворого на рак легенів

ФІГ. 4



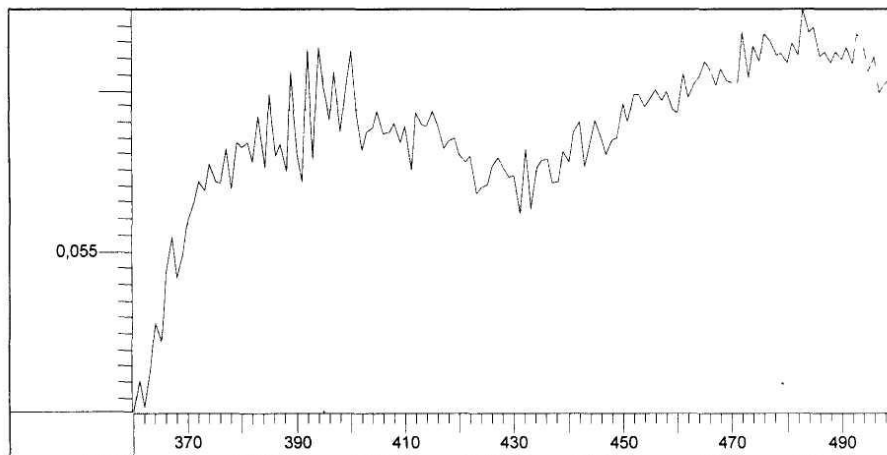
Крива оптичної щільності пацієнта К.

ФІГ. 5



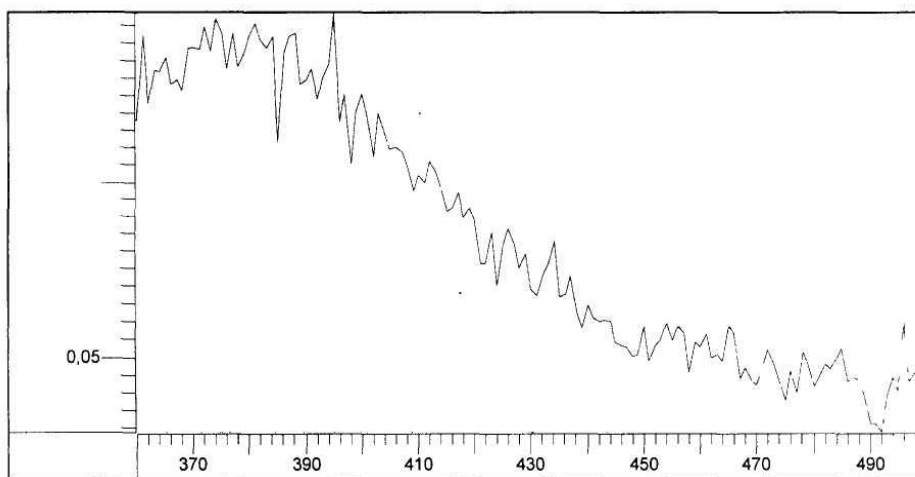
Крива оптичної щільності пацієнтки Ф.

ФІГ. 6



Крива оптичної щільності хворої Л.

ФІГ. 7



Крива оптичної щільності хворого С.

ФІГ. 8