



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006125704/15, 17.07.2006

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.07.2006

(45) Опубликовано: 27.04.2008 Бюл. № 12

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Медицинская и лабораторная диагностика. Справочник./Под ред. А.И.Карпищенко. - СПб, 1997, с.304. RU 2105306 C1 20.02.1998. US 2003236458 A1 25.12.2003. UA 67765 C2 15.02.2002. АЛЕКСЕЕВА М.Л. и др. Онкомаркеры, их характеристика и некоторые аспекты клинко-диагностического использования (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2005, 3, с.74-78. (см. прод.)

Адрес для переписки:

603005, г.Нижний Новгород, ул. Алексеевская,
1, Нижегородская медицинская академия,
патентный отдел, зав. отделом Е.К. Павловой

(72) Автор(ы):

Игнатьев Александр Арсентьевич (RU),
Насонов Сергей Викторович (RU),
Боровкова Людмила Васильевна (RU),
Егорова Наталья Александровна (RU),
Першин Дмитрий Владимирович (RU),
Ершова Вера Олеговна (RU),
Буланов Геннадий Александрович (RU),
Загрядская Людмила Петровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
"Нижегородская государственная медицинская
академия Федерального агентства по
здравоохранению и социальному развитию (ГОУ
ВПО НижГМА Росздрави) (RU),
Общество с ограниченной ответственностью
"Медицинская диагностики" (ООО "Медицинская
диагностика") (RU)

(54) СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ВНУТРЕННИХ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

(57) Реферат:

Предлагаемое изобретение относится к области медицины и может быть использовано в акушерстве и гинекологии для ранней дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований внутренних женских половых органов. Сущность способа: сыворотку крови высушивают, размельчают, готовят суспензию в вазелиновом масле. Затем проводят инфракрасный спектрофотометрический анализ в области спектра 1350-880 см⁻¹. Определяют

высоты пиков полос поглощения с максимумами 1320, 1308, 1271, 1241, 1200, 1177, 1169, 1158, 1136, 1117, 1080, 1035, 982, 973, 943, 935, 891. В зависимости от наличия характеристического комплекса максимумов пиков полос поглощения образца сыворотки крови диагностируют доброкачественные новообразования женской половой сферы, рак шейки матки, рак эндометрия или рак яичников. Способ позволяет повысить точность и специфичность дифференциальной диагностики, а также обеспечить возможность проведения скрининговых исследований.

(56) (продолжение):

БАЖОРА Ю.И. и др. Лазерная корреляционная спектроскопия в диагностике системных нарушений гомеостаза при акушерско-гинекологической патологии. Педиатрия, акушерство и гинекология, 2000, № 5, с.96-99. WU S.P. et al. SELDI-TOF MS profiling of plasma proteins in ovarian cancer. Taiwan. J. Obstet. Gynecol. 2006b Mar; 45(1), p.26-32. реф. Найдено из БД PubMed, PMID: 17272204. [Найдено 22.05.2007]. [он-лайн].



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2006125704/15, 17.07.2006**

(24) Effective date for property rights: **17.07.2006**

(45) Date of publication: **27.04.2008 Bull. 12**

Mail address:

**603005, g.Nizhnij Novgorod, ul.
Aleksееvskaja, 1, Nizhegorodskaja
meditsinskaja akademija, patentnyj otdel,
zav. otdelom E.K. Pavlovoj**

(72) Inventor(s):

**Ignat'ev Aleksandr Arsent'evich (RU),
Nasonov Sergej Viktorovich (RU),
Borovkova Ljudmila Vasil'evna (RU),
Egorova Natal'ja Aleksandrovna (RU),
Pershin Dmitrij Vladimirovich (RU),
Ershova Vera Olegovna (RU),
Bulanov Gennadij Aleksandrovich (RU),
Zagrjadskaja Ljudmila Petrovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie
vysshego professional'nogo obrazovanija
"Nizhegorodskaja gosudarstvennaja
meditsinskaja akademija Federal'nogo
agentstva po zdravookhraneniu i sotsial'nomu
razvitiyu (GOU VPO NizhGMA Roszdrava) (RU),
Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju
"Meditsinskaja diagnostiki" (OOO
"Meditsinskaja diagnostika") (RU)**

(54) **DIFFERENTIAL DIAGNOSIS METHOD FOR DIAGNOSING BENIGN AND MALIGNANT
NEOPLASMS IN INTERNAL FEMALE SEXUAL ORGANS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: method involves drying, crushing blood serum and preparing suspension in Vaseline oil. Then, infrared spectrophotometric analysis is carried out in spectrum bandwidth of 1350-880 cm⁻¹. Absorption bands heights are determined with maximum values of 1320, 1308, 1271, 1241,

1200, 1177, 1169, 1158, 1136, 1117, 1080, 1035, 982, 973, 943, 935, 891. Benign neoplasms in female sexual organs, uterine cervix carcinoma, endometrium carcinoma and ovarian carcinoma are diagnosed depending on characteristic complex of blood serum absorption band height maximum values available.

EFFECT: high accuracy and specificity of differential diagnosis; enabled screening studies.

Предлагаемое изобретение относится к области медицины, а именно к исследованию биологических жидкостей с помощью химических и физических методов, и может быть использовано в акушерстве и гинекологии для ранней дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований внутренних женских половых органов.

В настоящее время наблюдается рост заболеваний внутренних женских половых органов как доброкачественных, так и злокачественных у женщин самого трудоспособного возраста. При этом за последнее годы отмечена тенденция к «омоложению» группы заболевших. Нарастает заболеваемость в возрасте 20-40 лет. Успех в лечении этих заболеваний зависит от ранней и как можно более точной постановки диагноза, поэтому разработка способов дифференциальной диагностики имеет не только медицинскую, но и социальную значимость.

Для диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований женской половой сферы используются такие известные способы, как УЗИ, анализ крови на онкомаркеры, цитологические методы, морфологические методы.

Известен способ дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований внутренних женских половых органов путем ультразвукового исследования (УЗИ) (см. Медведев М.В., Хохолин В.А. Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике. 1997, т.3).

При абдоминальном УЗИ используют преобразователи с частотой 2,5 до 5 МГц, при трансвагинальном с более высокой частотой - до 7,5 МГц. Для исследования внутренних половых органов женщины используется УЗИ в реальном масштабе времени. Ультразвуковые волны, генерируемые пьезокристаллами преобразователя, проходят через ткани и на границе различных тканей, в силу отличия их физических свойств происходит отражение части УЗИ-волн. Этот процесс регистрируется преобразователем и превращается в двумерное изображение на мониторе ультразвукового сканера. Интенсивность отражения ультразвуковых волн от различных тканей соответственно их физическим свойствам будет различной. Она обуславливает яркость изображения на мониторе, характеризует физические свойства той или иной ткани, так называемую эхогенность.

Стандартную технику абдоминального УЗИ проводят при наполненном мочевом пузыре. Оптимальной является такая степень наполнения мочевого пузыря, когда достаточно хорошо визуализируется область дна матки. Известный способ позволяет диагностировать многие гинекологические заболевания.

Наиболее информативным обследованием является проведение трансвагинального УЗИ. При его проведении мочевой пузырь должен быть опорожнен. Благодаря непосредственному контакту сканирующей поверхности преобразователя и исследуемого органа появляется возможность использовать преобразователь с более высокой частотой сканирования (5-7,5 МГц) и соответственно более высокой разрешающей способностью.

Достигается также ряд других преимуществ. Значительно меньше отрицательных влияний на качество изображения оказывают такие факторы, как спаечный процесс малого таза, ожирение.

Однако известный способ обладает рядом существенных недостатков, а именно:

1. Менее высокая чувствительность и специфичность.

2. Невозможность диагностировать злокачественное образование на ранних стадиях.

3. Наполнение мочевого пузыря не только сопряжено с рядом неудобств, но иногда бывает и противопоказано. Недостатком известного способа является также изменение нормальных анатомических взаимоотношений органов малого таза в силу давления со стороны мочевого пузыря.

4. При трансвагинальном исследовании имеется непосредственный контакт сканирующей поверхности преобразователя с исследуемым органом, что позволяет использовать более высокую частоту сканирования и достичь высокой разрешающей способности и информативности исследования. При этом заметно увеличивается

количество поглощаемой тканями энергии и уменьшается получаемый преобразователем сигнал, что ведет к снижению качества изображения на мониторе. По этой же причине бывает трудно проводить трансвагинальное УЗИ образований в малом тазу, размер которых превышает 70-80 мм.

- 5 За прототип предлагаемого изобретения выбран известный способ дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований внутренних женских половых органов, включающий взятие сыворотки крови, исследование оптических полос поглощения и анализ полученных данных (см. под ред. проф. А.И. Карпищенко Справочник «Медицинская и лабораторная диагностика (программы и алгоритмы)», г. Санкт-Петербург, 10 изд-во «Интремедика», 1997 г., с.304).

Известный способ предназначен для диагностики и мониторинга онкологических заболеваний различной локализации, в том числе рака внутренних женских половых органов.

- Известный способ осуществляют следующим образом. В качестве биологического 15 материала для исследования берут сыворотку венозной крови и определяют в сыворотке раковый антиген СА125 в процессе реакции инкубации твердофазным неконкурентным методом, основанным на прямой «сендвичевой» технологии. Стандарты, контроли и образцы пациентов инкубируются вместе с биотинилированными анти-СА125 моноклональными антителами Ov 197 (полученными из мыши) в покрытых стрептавидином 20 ячейках микропланшета. В процессе инкубации СА125, содержащийся в стандартах, контролях или образцах пациентов, адсорбируется на покрытых стрептавидином ячейках микропланшета с биотинилированными анти-СА125 моноклональными антителами. Стрипы затем промываются и инкубируются с пероксидазой хрена, меченной анти-СА125 моноклональными антителами Ov185. После промывки в каждую ячейку добавляется 25 буферный субстрат / хромогенный реагент (перекись водорода и 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин), в результате происходит ферментативная реакция. В процессе реакции в присутствии антигена развивается голубая окраска. Интенсивность окраски пропорциональна количеству антигена СА125 в образце. Интенсивность окраски измеряется на микропланшетном ридере с фильтром 620 нм (или, что необязательно, при 30 405 нм после добавления стоп-раствора). Стандартные кривые строятся для каждого анализа в координатах: оптическая плотность против концентрации для каждого стандарта. Концентрация СА125 в образцах пациента рассчитывается по калибровочной кривой и для здоровых людей концентрация антигена должна быть меньше 35 Е/мл. Верификация онкомаркеров дает дополнительную информацию о наличии или отсутствии 35 опухолевого процесса наряду с другими исследованиями. Исследование онкомаркеров до и после лечения помогает оценить эффективность проводимого лечения и контролировать возможность раннего выявления рецидивов.

- Известно, что опухоль является источником множества веществ, которые по своему строению либо далеки от «строительных материалов» человека, либо обнаруживаются в 40 количествах, не характерных для нормы. Определение этих веществ и лежит в основе способа, именуемого определением онкомаркеров.

Наиболее чувствительным онкомаркером для диагностики новообразований внутренних женских половых органов является онкомаркер, ассоциированный с карциномой яичника (СА 125).

- 45 Однако известный способ также имеет недостатки.

- Менее высокая чувствительность и специфичность одновременно: из применяемых в настоящее время для скрининговой диагностики биохимических сывороточных онкомаркеров лишь единичные обладают высокими (более 85%) показателями как 50 чувствительности, так и специфичности.

- Определение большинства сывороточных онкомаркеров не годится для первичного скрининга онкологических заболеваний (так как может выявляться и при доброкачественных образованиях женской половой сферы, и при воспалительных заболеваниях органов малого таза, при опухолях молочной железы и желудочно-кишечного

тракта), но информативно для оценки эффективности лечения и прогноза.

- На концентрацию опухолевого маркера влияют многочисленные факторы:

in vitro:

- условия хранения,

5 - время между забором крови и центрифугированием не более 60 мин,

- гемолиз и желтуха,

- загрязнение образца слюной увеличивает уровень SCC, CA 19,

- влияние лекарственных препаратов,

in vivo:

10 - продукция опухолевых маркеров,

- высвобождение опухолевых маркеров,

- масса опухоли,

- кровоснабжение опухоли,

- режим пациента,

15 - положение тела во время забора,

- функция печени и почек,

- курение.

Кроме того, уровень некоторых опухолевых маркеров зависит от конкретного метода тестирования, мониторинг необходимо проводить на одном типе тест-систем.

20 Задачей предлагаемого изобретения является повышение точности и специфичности дифференциальной диагностики, а также обеспечение возможности проводить скрининговые исследования.

Поставленная задача решается тем, что в известном способе дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований внутренних женских
25 половых органов, включающем взятие сыворотки крови, исследование оптических полос поглощения и анализ полученных данных, предварительно сыворотку крови высушивают, размельчают, готовят суспензию в вазелиновом масле и проводят инфракрасный спектрофотометрический анализ в области спектра $1350-880\text{ см}^{-1}$, определяют высоты пиков полос поглощения с максимумами 1320, 1308, 1271, 1241, 1200, 1177, 1169, 1158,
30 1136, 1117, 1080, 1035, 982, 973, 943, 935, 891, после чего диагноз доброкачественных новообразований женской половой сферы выставляют при наличии характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1241, 1200, 1169, 1117, 982, 973, 943, 935 см^{-1} ,

35 диагноз рак шейки матки выставляют при наличии следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1200, 1169, 1117, 1035, 982, 891 см^{-1} ,

40 диагноз рак эндометрия выставляется при наличии следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1241, 1177, 982, 973, 891 см^{-1} ,

45 диагноз рак яичников выставляется при наличии следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1271, 1169, 1158, 1117, 1080, 943, 935 см^{-1} ,

при норме следующего комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами - 1308, 1241, 1200, 1177, 1136, 1117, 1080, 973, 943, 935 см^{-1} .

Предлагаемое изобретение отвечает критериям «новизна» и «изобретательский уровень», так как проведенные патентно-информационные исследования не выявили источников патентной и научно-технической информации, которые бы порочили новизну предлагаемого способа, равно как и технических решений с существенными признаками предлагаемого. Известен способ подготовки сыворотки крови для исследования (Патент РФ
50 №21224205 от 27.12.98).

Предлагаемое изобретение позволяет при использовании получить следующий положительный эффект.

С помощью предлагаемого способа обследовано более 60 женщин с

доброкачественными и злокачественными заболеваниями женской половой сферы, а также 46 женщин разных возрастных категорий с отсутствием гинекологической патологии.

Диагностическая точность составила 91%, диагностическая чувствительность 89%, специфичность 94%. Предлагаемый способ позволяет увеличить чувствительность и

5 специфичность дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных образований женской половой сферы. Способ обеспечивает возможность диагностировать злокачественные новообразования на ранней стадии. Предлагаемый способ позволяет наблюдать динамику развития заболевания или выздоровления. При неоднократном заборе крови могут быть построены графики, иллюстрирующие те или иные изменения в
10 организме. Кроме того, способ позволяет провести анализ по сухой сыворотке, имеющей длительный срок хранения (не менее 1 года). Способ прост, удобен и безопасен для пациента. Для его осуществления необходимо всего 10 мл венозной крови, взятой утром натощак. Стоимость спектрального анализа значительно меньше, чем совокупность других анализов, необходимых для аналогичной оценки состояния организма.

15 Таким образом, предлагаемый способ может быть использован для дифференциальной диагностики, контроля за изменением степени тяжести доброкачественных и злокачественных заболеваний женской половой сферы, коррекции лекарственной терапии и определения степени радикальности хирургического вмешательства.

Способ осуществляют следующим образом.

20 Предварительно сыворотку крови высушивают, размельчают, готовят суспензию в вазелиновом масле и проводят инфракрасный спектрофотометрический анализ в области спектра $1350\text{--}880\text{ см}^{-1}$, определяют высоты пиков полос поглощения с максимумами 1320, 1308, 1271, 1241, 1200, 1177, 1169, 1158, 1136, 1117, 1080, 1035, 982, 973, 943, 935, 891. После этого оценивают характеристический комплекс пиков полос поглощения.

25 Диагноз доброкачественных новообразований женской половой сферы (миома матки, истинные доброкачественные опухоли яичников, эндометриоз) выставляют при наличии характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1241, 1200, 1169, 1117, 982, 973, 943, 935 см^{-1} .

30 Диагноз рак шейки матки выставляют при наличии следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1200, 1169, 1117, 1035, 982, 891 см^{-1} .

Диагноз рак эндометрия выставляется при наличии следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1241, 1177, 982, 973, 891 см^{-1} .

35 Диагноз рак яичников выставляется при наличии следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1271, 1169, 1158, 1117, 1080, 943, 935 см^{-1} .

40 Норма - комплекс пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами - 1308, 1241, 1200, 1177, 1136, 1117, 1080, 973, 943, 935 см^{-1} .

Примеры конкретного исполнения даны в виде выписок из историй болезни.

Пример 1. Больная Абрамова Т.Н., 45 лет, ист. болезни №29196.

На основании ИК-спектрометрического анализа сыворотки крови поставлен диагноз доброкачественного новообразования женских половых органов по наличию следующего
45 характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1241, 1200, 1169, 1117, 982, 973, 943, 935 см^{-1} . После проведения комплекса клинических и инструментальных исследований, операции экстирпации матки с придатками и гистологического исследования операционного материала верифицирована ангиолейомиома матки.

50 Пример 2. Больная Гилыпакова А.Х., 36 лет, ист. болезни №29262.

На основании ИК-спектрометрического анализа сыворотки крови поставлен диагноз доброкачественного новообразования женских половых органов по наличию следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с

максимумами в - 1320, 1241, 1200, 1169, 1117, 982, 973, 943, 935 см^{-1} . После проведения комплекса клинических и инструментальных исследований, операции экстирпации матки без придатков и гистологического исследования операционного материала верифицирован аденомиоз 3 ст.

5 Пример 3. Больная Ионова Л.Н., 52 лет, ист. болезни №50754.

На основании ИК-спектрометрического анализа сыворотки крови поставлен диагноз доброкачественного новообразования женских половых органов по наличию следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1241, 1200, 1169, 1117, 982, 973, 943, 935 см^{-1} . После проведения

10 комплекса клинических и инструментальных исследований, операции надвлагалищной ампутации матки с придатками и гистологического исследования операционного материала верифицирована аденофиброма яичника.

Пример 4. Больная Угодчикова И.А., 68 лет, ист. болезни №0425660.

На основании ИК-спектрометрического анализа сыворотки крови поставлен диагноз рака

15 шейки матки по наличию следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1200, 1169, 1117, 1035, 982, 891 см^{-1} . После проведения комплекса клинических и инструментальных исследований, операции экстирпации матки с придатками и гистологического исследования операционного материала верифицирован рак шейки матки (T1aNxM0).

20 Пример 5. Больная Суздальцева А.К., 60 лет, ист. болезни №0460040.

На основании ИК-спектрометрического анализа сыворотки крови поставлен диагноз рака эндометрия по наличию следующего характеристического комплекса пиков полос

25 поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1241, 1177, 982, 973, 891 см^{-1} . После проведения комплекса клинических и инструментальных исследований, операции экстирпации матки с придатками и гистологического исследования операционного материала верифицирована умеренно дифференцированная аденокарцинома эндометрия (T1aNxM0).

Пример 6. Больная Потехина А.Н., 45 лет, ист. болезни №0425614.

На основании ИК-спектрометрического анализа сыворотки крови поставлен диагноз рака

30 яичников по наличию следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1271, 1169, 1158, 1117, 1080, 943, 935 см^{-1} . После проведения комплекса клинических и инструментальных исследований, операции надвлагалищной ампутации матки с придатками и гистологического исследования операционного материала верифицирована малигнизированная цистаденома яичника.

35

Формула изобретения

Способ дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований внутренних женских половых органов, включающий взятие сыворотки

40 крови, исследование оптических полос поглощения и анализ полученных данных, отличающийся тем, что предварительно сыворотку крови высушивают, размельчают, готовят суспензию в вазелиновом масле и проводят инфракрасный

спектрофотометрический анализ в области спектра 1350-880 см^{-1} определяют высоты пиков полос поглощения с максимумами 1320, 1308, 1271, 1241, 1200, 1177, 1169, 1158,

45 1136, 1117, 1080, 1035, 982, 973, 943, 935, 891, после чего

диагноз доброкачественных новообразований женской половой сферы выставляют при наличии характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1241, 1200, 1169, 1117, 982, 973, 943, 935 см^{-1} ,

50 диагноз рак шейки матки выставляют при наличии характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1200, 1169, 1117, 1035, 982, 891 см^{-1} ,

диагноз рак эндометрия выставляется при наличии следующего характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320,

1241, 1177, 982, 973, 891 см^{-1} ,

диагноз рак яичников выставляется при наличии характеристического комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами в - 1320, 1271, 1169, 1158, 1117, 1080, 943, 935 см^{-1} ,

5 при норме комплекса пиков полос поглощения образца сыворотки крови с максимумами - 1308, 1241, 1200, 1177, 1136, 1117, 1080, 973, 943, 935 см^{-1} .

10

15

20

25

30

35

40

45

50