

Национальный институт рака, Киев

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ И МЕХАНОЭМИССИЯ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ С ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ БЕРЕМЕННОСТИ



Н.П. Цип, Л.И. Воробьева,
В.Э. Орел, А.В. Романов,
Н.Н. Дзятковская

Адрес:
Цип Наталья Павловна
03022, Киев, ул. Ломоносова, 33/43
Национальный институт рака
Тел.: (044) 259-01-73
E-mail: ntsip@mail.ru

Ключевые слова: трофобластическая болезнь беременности, спонтанная хемилюминесценция и механоэмиссия крови.

В результате проведенных исследований выявили принципиальную возможность дифференцированного распознавания по статистическим правилам характерных особенностей нелинейных процессов в сигналах спонтанной хемилюминесценции и механоэмиссии крови у больных с трофобластической болезнью беременности. Определение спонтанной хемилюминесценции сыворотки крови может быть дополнительным прогностическим критерием агрессивности течения пузырного заноса с чувствительностью 100%, специфичностью 89% и точностью 93%.

ВВЕДЕНИЕ

Трофобластическая болезнь беременности (ТББ) — это сборное понятие, включающее группу доброкачественных и злокачественных новообразований трофобласта. Наиболее часто в клинической практике встречается доброкачественная трофобластическая опухоль (ТОп) — пузырный занос (ПЗ) (полный — в 72,2% случаев, частичный — в 5%) [1]. Пристальное внимание онкогинекологов к этой доброкачественной опухоли обусловлено тем, что в 6,8–20% случаев после полного ПЗ и в 2,5–7,5% после частичного ПЗ развиваются злокачественные ТОп, требующие специальных методов лечения [2].

В последнее десятилетие большинство пузырных беременностей благодаря ультразвуковому исследованию стали диагностироваться на ранних сроках (до 12 нед беременности). Вместе с тем при обследовании женщин в ранние сроки беременности полный ПЗ диагностируется лишь в 40–60% случаев [3, 4].

Так как материал, полученный после медицинских аборт или аборт в ходу, не всегда морфологически исследуется, у части женщин диагноз злокачественной ТОп, инициированной нераспознанным ПЗ, устанавливается на поздних стадиях заболевания.

Морфологически отличить выкидыш от частичного ПЗ также достаточно трудно при дисморфизме ворсинок хориона, но без характерной для частичного ПЗ гиперплазии трофобласта. В этих ситуациях необходимо использование вспомогательных методик: проточной цитометрии, флуоресцентной *in situ*

гибридизации (FISH), молекулярного генотипирования [5].

Однако даже эти методы не позволяют на ранних сроках дифференцировать ПЗ от триплоидного продукта зачатия, в этих ситуациях необходимы молекулярные исследования.

Все вышеперечисленное свидетельствует о необходимости поиска новых дополнительных диагностических методов. Одним из таких подходов может быть применение методов исследования эмиссии крови — спонтанной хемилюминесценции (СХЛ) и механоэмиссии (МЭ). СХЛ — это явление спонтанной нестационарной эмиссии фотонов света, возникающее в результате ферментативных и свободнорадикальных химических реакций [6]. МЭ — это явление возбужденной эмиссии заряженных частиц, которое возникает в результате ферментативных и свободнорадикальных механохимических реакций [7].

Цель настоящего исследования — оценить информативность СХЛ и МЭ крови в ранней диагностике и прогнозировании агрессивности течения ПЗ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

СХЛ и МЭ крови изучали в 5 группах женщин: 1-ю группу составили 18 женщин с физиологической беременностью в I триместр (контроль); 2-ю — 10 женщин с угрозой прерывания беременности в I триместр; 3-ю — 10 больных с пузырной беременностью (ПЗ); 4-ю — 10 больных со злокачественными ТОп, инициированными ПЗ (ПТОп); 5-ю — 10 пациенток с хориокарциномой (ХК). У всех больных с ТОп диагноз морфологически

Таблица 1 Параметры кривых СХЛ сыворотки крови ($M \pm m$)

Группы	M	s	A	E	S	W	Me	LowQ	HighQ	s_L	s_R	s_L/s_R
1 Физиологическая беременность	509,5 ± 0,6	69,9 ± 0,4	-1,66 ± 0,01	2,06 ± 0,02	3,350 ± 0,002	0,0522 ± 0,0003	527,9 ± 0,6	508,2 ± 0,1	553,4 ± 0,4	84,6 ± 0,5	49,1 ± 0,2	0,584 ± 0,002
2 Угроза прерывания беременности	501,7 ± 0,4*	73,0 ± 0,4*	-1,74 ± 0,01*	2,24 ± 0,01*	3,297 ± 0,003*	0,0576 ± 0,0003*	517,1 ± 0,4*	508,0 ± 0,02*	545,9 ± 0,2*	89,1 ± 0,5*	49,7 ± 0,2*	0,559 ± 0,002*
3 ПЗ	555,8 ± 2,5**	55,0 ± 0,9**	-1,93 ± 0,03**	3,91 ± 0,15**	3,251 ± 0,011**	0,0543 ± 0,0007**	572,1 ± 2,1**	545,2 ± 2,9*#	589,2 ± 1,8**	65,5 ± 1,1**	39,1 ± 0,7**	0,596 ± 0,004**
4 ПТОп	565,9 ± 3,7**°	61,9 ± 1,3**°	-1,70 ± 0,04°	2,85 ± 0,18**°	3,402 ± 0,022**°	0,0456 ± 0,0010**°	584,2 ± 3,9**°	554,4 ± 4,3**°	606,4 ± 4,0**°	73,2 ± 1,3**°	46,0 ± 1,3**°	0,626 ± 0,010**°
5 ХК	537,7 ± 3,3**°	61,3 ± 0,9**°	-1,64 ± 0,02**°	2,35 ± 0,14**°	3,364 ± 0,011**°	0,0475 ± 0,0005**°	556,0 ± 3,0**°	525,8 ± 3,6**°	579,6 ± 2,9**°	72,4 ± 1,1**°	45,4 ± 0,7**°	0,628 ± 0,003**°

Примечание: * – статистически достоверные отличия по отношению к пациенткам с физиологической беременностью, ** – к пациенткам с угрозой прерывания беременности, ° – к пациенткам с ПЗ, # – к пациенткам со злокачественными ТОп, инициированными ПЗ, $p < 0,05$.

верифицирован. Так как наибольшую сложность представляет диагностирование ПЗ в ранние сроки, в исследуемые группы включены женщины с размерами матки до 12 нед беременности. Средние размеры матки в 1-й группе — 8,6±0,6 нед; во 2-й — 8,7±0,3 нед; в 3-й — 9,7±0,1 нед; в 4-й — 4,7±0,6 нед; в 5-й — 7,4±0,7 нед. Группы сравнимы по возрасту: средний возраст женщин 1-й группы составлял 25±1,0 года, 2-й — 25±2,0 года, 3-й — 24±1,0 года, 4-й — 27±3,0 года, 5-й — 29±3,0 года.

СХЛ сыворотки крови измеряли в спектральном диапазоне 200–600 нм хемилюминометром ХЛМЦ-01 (Радиозавод, Украина), соединенным с компьютером. Для каждой пациентки было получено 5 выборок сигналов СХЛ объемом по 50 тыс. значений каждая. Исследование проводили согласно методике, изложенной в работе [8].

МЭ цельной крови регистрировали при помощи аппаратно-программного комплекса ТРА-3 (ЭПМ, Украина) согласно методике [9]. Принцип работы устройств регистрации МЭ основан на трибоэлектризации, механической деформации биопробы с помощью зонда и одновременной регистрации кинетики радиоизлучения, а также последующей их оценке на основе измерения и расчета хаотических колебаний. Для каждой пациентки было получено 5 выборок сигналов объемом по 50 тыс. значений каждая.

Нелинейный анализ сигналов СХЛ и МЭ больных с ТББ проводили с использованием статистических параметров выборочного среднего значения (M), среднеквадратического отклонения (s), коэффициента асимметрии (A) и эксцесса распределения (E), энтропии по Шеннону (S), энергии (W), медианы (Me), нижнего ($LowQ$) и верхнего ($HighQ$) квартилей, среднеквадратического отклонения, под-

считанного для левой (s_L) и правой (s_R) частей распределения, а также их отношения (s_L/s_R) [10]. Для исследованных групп были вычислены средние значения показателей и построены доверительные интервалы по статистическому правилу 3 «сигм» ($M - 3s$, $M + 3s$), а также ($M - 2s$, $M + 2s$) и ($M - 3m$, $M + 3m$) на основе расчета выборочного среднеквадратического отклонения (s) и ошибки среднего (m). Алгоритм распознавания состоял в анализе количества выходов значения исследованного показателя за доверительные интервалы, построенные для каждой из групп [11, 12].

Для численной обработки кривых СХЛ и МЭ крови использовали оригинальные компьютерные программы Onco, MEDistrib и Microsoft® Excel 2002 (©Microsoft Corporation, 1985–2001). Статистический анализ достоверности полученных данных проводили при помощи t -критерия Стьюдента, используя компьютерную программу Statistica 6.0 с предварительной проверкой гипотезы о нормальном законе распределения случайной величины по критерию Колмогорова — Смирнова.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведены значения параметров кривых СХЛ в исследованных группах женщин.

Результаты распознавания по статистическому правилу «2s» представлены в табл. 2.

Распознавание заболевания в случаях сравнения групп пациенток «угроза прерывания беременности — ПЗ» и «угроза прерывания беременности — злокачественные ТОп, инициированные ПЗ» безошибочное. С клинической точки зрения распознавание групп «угроза прерывания беременности — ПЗ» имеет большую практическую ценность.

Таблица 2 Результаты распознавания при помощи параметров кривых СХЛ сыворотки крови

Сравниваемые группы	Чувствительность, Специфичность, Точность, %		
	Чувствительность, %	Специфичность, %	Точность, %
Физиологическая беременность — угроза прерывания	60	92	81
Физиологическая беременность — ПЗ	92	88	90
Физиологическая беременность — ПТОп	100	88	92
Физиологическая беременность — ХК	100	67	80
Угроза прерывания — ПЗ	100	100	100
Угроза прерывания — ПТОп	100	100	100
Угроза прерывания — ХК	100	89	95
ПЗ — ПТОп	100	89	93
ПЗ — ХК	88	91	89
ПТОп — ХК	75	100	86

15–20% клинически распознаваемых беременностей спонтанно прерываются в течение I триместра (4). При ПЗ у 90% женщин наблюдаются маточные кровотечения различной интенсивности и клиника самопроизвольного аборта. В большинстве случаев морфологическое исследование не проводится, что может стать причиной диссеминированных злокачественных ТОп, инициированных нераспознанным ПЗ.

Высокая чувствительность, специфичность и точность распознавания при сравнении групп «ПЗ — злокачественные ТОп, инициированные ПЗ» также свидетельствует о ценности определения СХЛ крови больных с ПЗ в качестве дополнительного прогностического теста агрессивности течения ПЗ.

В табл. 3 приведены средние значения показателей кривых МЭ в исследуемых группах пациентов.

Таблица 3 Параметры кривых МЭ крови ($M \pm m$)

Группы	M	s	A	E	S	s_L	s_R	s_L/s_R
1 Физиологическая беременность	495,7 ± 0,1	35,4 ± 1,3	5,63 ± 0,24	91,79 ± 5,59	2,713 ± 0,047	24,2 ± 1,2	46,3 ± 1,5	2,15 ± 0,04
2 Угроза прерывания беременности	496,0 ± 0,1*	28,0 ± 1,1*	6,05 ± 0,25	106,87 ± 6,14	2,571 ± 0,036*	18,3 ± 0,9*	37,8 ± 1,4*	2,14 ± 0,04
3 ПЗ	513,6 ± 0,2**	34,4 ± 0,9*	4,27 ± 0,22**	159,85 ± 14,41**	1,223 ± 0,025**	22,3 ± 0,6*	80,5 ± 3,5**	4,02 ± 0,21**
4 ПТОп	513,8 ± 0,4**	31,9 ± 1,0**	4,84 ± 0,20**	198,34 ± 15,47**	1,104 ± 0,033**°	19,5 ± 0,6**°	85,3 ± 3,7**	4,75 ± 0,24**°
5 ХК	514,3 ± 0,2**°	31,4 ± 0,8**°	5,11 ± 0,25**°	207,72 ± 18,02**°	1,047 ± 0,026**°	19,3 ± 0,6**°	83,6 ± 3,6**°	4,68 ± 0,23**°

Примечание: * – статистически достоверные отличия по отношению к пациенткам с физиологической беременностью, ** – к пациенткам с угрозой прерывания беременности, ° – к пациенткам с ПЗ, $p < 0,05$.

Результаты распознавания с использованием доверительных интервалов, построенных по статистическим правилам «3s», «2s», «3m», показаны в табл. 4.

Таблица 4 Результаты распознавания при помощи показателей кривых МЭ крови

Сравниваемые группы	Чувствительность, %	Специфичность, %	Точность, %
Физиологическая беременность – угроза прерывания	56	88	76
Физиологическая беременность – ПЗ	100	100	100
Физиологическая беременность – ПТОп	100	100	100
Физиологическая беременность – ХК	100	100	100
Угроза прерывания – ПЗ	100	100	100
Угроза прерывания – ПТОп	100	100	100
Угроза прерывания – ХК	100	100	100
ПЗ – ПТОп	90	58	71
ПЗ – ХК	67	100	85
ПТОп – ХК	70	88	71

Анализ исследованных выборок свидетельствует о том, что использованный метод позволил безошибочно отличить пациенток с физиологической и угрозой прерывания беременности от больных с ПЗ, ПТОп и ХК. В других случаях ошибка распознавания была более существенной и колебалась в пределах от 10 до 44%. Использованные диагностические тесты выявили среди больных с опухолями трофобласта характерные дифференциальные особенности нелинейных процессов МЭ крови у больных с ХК с ошибкой 30%.

Как и при исследовании СХЛ крови женщин с физиологической и угрозой пре-

рывания беременности сигналы МЭ характеризовались наиболее сопоставимыми величинами.

Значимость МЭ крови для прогнозирования агрессивности течения ПЗ значительно меньше: чувствительность — 90%, специфичность — 58% и точность — 71%.

В настоящее время основной диагностический критерий развития злокачественной ТОп, инициированной ПЗ, — уровень хорионического гонадотропина в сыворотке крови больных (FIGO-ВОЗ, 2002). В разрабатываемых в 2012 г. Европейских рекомендациях по диагностике и лечению ТББ предлагается контролировать уровень ХГЧ в сыворотке крови еженедельно до нормализации уровня, а затем ежемесячно в течение 6 мес после эвакуации полного ПЗ. Четких рекомендаций лечебной тактики у больных с низкими и следовыми уровнями ХГЧ сегодня нет.

В связи с этим в качестве молекулярных факторов прогноза агрессивности течения ПЗ предлагают определение: КИ 67, с-erbB-2, Mcl-1, теломеразной активности, апоптотических индексов.

Определение СХЛ сыворотки крови может быть дополнительным прогностическим признаком агрессивности течения ПЗ с чувствительностью 100%, специфичностью 89% и точностью 93%.

Выводы

1. Анализ исследованных выборок СХЛ и МЭ крови свидетельствует о том, что использованные диагностические тесты позволяют безошибочно отличать пациенток с физиологической беременностью и пациенток с угрозой прерывания беременности в I триместр от больных с ПЗ, злокачественными ТОп, инициированными ПЗ, и ХК.

2. Проведенные исследования позволили показать принципиальную возможность

дифференцированного распознавания по статистическим правилам характерных особенностей нелинейных процессов в сигналах СХЛ и МЭ крови у больных с ТББ.

3. В исследованных группах пациенток с физиологической беременностью и угрозой прерывания беременности в I триместр зарегистрированы наиболее сопоставимые величины в параметрах стохастичности сигналов СХЛ и МЭ крови.

4. Определение СХЛ сыворотки крови может быть дополнительным прогностическим критерием агрессивности течения ПЗ с чувствительностью 100%, специфичностью 89% и точностью 93%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Annual report on the results of treatment in gynecological cancer (2001) J. epid. biostat., 6(1): 177–184.
2. Soper J., Creasman W.T. (2012) Гестационная трофобластическая болезнь. Клиническая онкогинекология / Под. ред. Ф. Дж. Дисай, У.Т. Крисмана, перевод сангл. под ред. Е.Г. Новиковой. М.: Практ. мед., 2: 180–221.
3. Fowler D.J., Lindsay I., Seckl M.J., Sebire N.J. (2006) Routine pre-evacuation ultrasound diagnosis of hydatidiform mole: experience of more than 1000 cases from a regional referral center. Ultrasound Obstet Gynecol, 27: 56–60.
4. Johns J., Greenwald N., Buckley S., Jauniaux E. (2005) A prospective study of ultrasound screening for molar pregnancies in missed miscarriages. Ultrasound Obstet Gynecol, 25: 493–497.
5. Seckl M.J., Sebire N.J., Berkowitz R.S. (2010) Gestational trophoblastic disease. Lancet, 376: 717–729.
6. Серкиз Я.И., Чеботарев Е.Е., Барабой В.А. и др. (1984) Хемиллюминесценция крови в экспериментальной и клинической онкологии. Киев: Наукова думка, 184 с.
7. Орел В.Э. (2002) Хаос и рак, механохимия и механоэмиссия. АОЗТ «Телеоптик», 296 с.
8. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. (1991) Перекисное окисление и радиация. К.: Наукова думка, 256 с.
9. Orel V.E., Romanov A.V., Dzyatkovskaya N.N., Mel'nik Yu.I. (2002) The device and algorithm for estimation of the mechanoemission chaos in blood of patients with gastric cancer. Medical Engineering and Physics, 24(5): 365–371.
10. Корн Г., Корн Т. (1974) Справочник по математике для научных работников и инженеров. М.: Наука, 831 с.
11. Петунин Ю.И. (1981) Приложение теории случайных процессов в биологии и медицине. К.: Наукова думка, 320 с.
12. Петунин Ю.И., Орел В.Э., Романов А.В. (2004) Діагностичний аналіз хаотичних кривих механоемісії крові хворих на рак травного тракту за допомогою методів статистичної теорії розпізнавання образів. Журнал обчисл. прикл. матем., 1: 89–98.

Хемілюмінесценція та механоемісія крові вагітних жінок і хворих із трофобластичною хворобою вагітності

Н.П. Ціп, Л.І. Воробйова, В.Е. Орел, А.В. Романов, Н.М. Дзятковська

Національний інститут раку, Київ

Резюме. У результаті проведених досліджень виявили принципову можливість диференційного розпізнавання за статистичними правилами характерних особливостей нелінійних процесів у сигналах спонтанної хемілюмінесценції та механоемісії крові у хворих з трофобластичною хворобою вагітності. Визначення спонтанної хемілюмінесценції сироватки крові може бути додатковим прогностичним критерієм агресивності перебігу міхурового заносу з чутливістю 100%, специфічністю 89% та точністю 93%.

Ключові слова: трофобластична хвороба вагітності, спонтанна хемілюмінесценція та механоемісія крові.

Chemiluminescence and mechanoemission blood levels of pregnant women and patients with gestational trophoblastic disease

N.P. Tsip, L.I. Vorobyova, V.E. Orel, A.V. Romanov, N.N. Dzyatkovskaya

National Cancer Institute, Kyiv

Summary. Studies have revealed the possibility of recognition the characteristic features of nonlinear processes in the signals spontaneous chemiluminescence and mechanoemission levels in patients with gestational trophoblastic disease. Measurement of spontaneous chemiluminescence blood levels may be an additional predictor of hydatidiform mole behavior with sensitivity of 100%, specificity 89% and accuracy of 93%.

Key words: gestational trophoblastic disease, spontaneous chemiluminescence and mechanoemission blood levels.