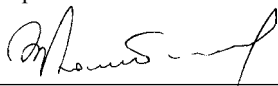


**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра



В.В. Колбанов

11 апреля 2003 г.

Регистрационный № 31-0102

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ  
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ  
У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПИЩЕВОДА  
И КАРДИОЭЗОФАГЕАЛЬНЫМ РАКОМ  
ПО ЛАБОРАТОРНЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ КРОВИ**

Инструкция по применению

**Учреждение-разработчик:** ГУ «Научно-исследовательский институт онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

**Авторы:** д-р мед. наук, проф. В.И. Прохорова, д-р мед. наук, проф. А.А. Машевский, канд. биол. наук Л.А. Державец, канд. биол. наук С.В. Лаппо, канд. биол. наук Т.П. Цырусъ, Е.А. Машевская, канд. биол. наук Р.М. Смолякова, Л.И. Пашко, Н.В. Юревич, канд. мед. наук В.Т. Малькевич, Е.В. Кажяева, канд. физ.-мат. наук М.С. Абрамович

Объемы и характер радикальных хирургических вмешательств при раке пищевода (РП) и кардиоэзофагеальном раке (КР) относятся к разряду самых сложных в хирургической практике и сопровождаются высоким процентом послеоперационных осложнений и летальности (от 7 до 40%). Основная часть из них связана с хирургическим компонентом, однако большую долю составляют и послеоперационные осложнения терапевтического профиля.

В данной инструкции суммирован опыт исследования опухолевых маркеров, показателей системы «перекисное окисление липидов — антиоксидантная система (ПОЛ — АОС)», характеристик электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) сыворотки крови в ГУ «НИИ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» при РП и КР.

Установлено, что изменения внутренней среды организма под влиянием опухоли у больных РП и КР проявляются существенным усилением процессов свободнорадикального окисления липидов, снижением антиоксидантной активности крови, транспортной функции альбумина и повышением уровня опухолеассоциированных антигенов (ОАА) еще на дооперационном этапе. Эти изменения более выражены у тех больных, у которых в послеоперационном периоде развиваются осложнения, причем независимо от их характера. Метаболические нарушения являются основой развития осложнений как хирургического (несостоятельность швов анастомозов, некроз желудочного стебля, нагноение послеоперационной раны и т.д.), так и терапевтического (пневмония, плеврит, ишемия миокарда и т.д.) профиля.

Однако, несмотря на достоверные различия в содержании ОАА (РЭА, СА 72–4, СА 19–9,  $\beta_2$ -МГ, ферритин), показателей системы ПОЛ — АОС и транспортной функции альбумина в группах больных с неосложненным и осложненным послеоперационным периодом, индивидуальное использование каждого из этих показателей для прогнозирования непосредственных результатов лечения больных РП и КР весьма проблематично из-за широкого диапазона колебаний их величин.

Диапазон рассматриваемых показателей представлен в табл. 1.

Таблица 1

## Диапазон рассматриваемых показателей

| Показатели                                  | Исследуемые лица  |  |  |
|---|-------------------|--|--|
|   | Здоровые          | Больные РП и КР  |  |
|   |                   | с неосложненным послеоперационным периодом<br>( $X \pm Sx$ ) | с осложнениями хирургического и терапевтического профиля<br>( $X \pm Sx$ ) |
| ЭПР-параметр $\alpha$ , усл. ед. ОАА        | <1,0              | 1,66 $\pm$ 0,11  | 2,8 $\pm$ 0,2  |
| РЭА, нг/мл                                  | 1,32 $\pm$ 0,08   | 6,8 $\pm$ 0,8  | 12,1 $\pm$ 0,6   |
| СА 72–4, ЕД/мл                              | 2,34 $\pm$ 0,09   | 9,3 $\pm$ 3,9  | 12,8 $\pm$ 3,5   |
| СА 19–9, ЕД/мл                              | 7,96 $\pm$ 0,65   | 29,9 $\pm$ 1,1   | 40,5 $\pm$ 8,5   |
| Ферритин, нг/мл                             | 67,9 $\pm$ 4,8    | 202,5 $\pm$ 28,8   | 280,2 $\pm$ 26,9   |
| $\beta_2$ -микроглобулин, нг/мл             | 1745,2 $\pm$ 36,5 | 2518,3 $\pm$ 104,7   | 3207,7 $\pm$ 112,9   |
| ПОЛ — АОС                                   |                   |  |  |
| Диеновые конъюгаты (ДК), усл. ед./мл        | 1,4 $\pm$ 0,03    | 2,3 $\pm$ 0,1  | 3,2 $\pm$ 0,2  |
| Диенкетоны (Д), усл. ед./мл                 | 0,3 $\pm$ 0,02    | 0,4 $\pm$ 0,08   | 0,6 $\pm$ 0,06   |
| Малоновый диальдегид (МДА), усл. ед./мл     | 3,6 $\pm$ 0,1     | 7,7 $\pm$ 0,6  | 14,1 $\pm$ 0,7   |
| Основания Шиффа (ОШ), усл. ед./мл           | 7,0 $\pm$ 0,8     | 7,5 $\pm$ 0,5  | 11,8 $\pm$ 0,7   |
| Ретинол (витамин А), мкмоль/л               | 2,1 $\pm$ 0,2     | 1,58 $\pm$ 0,1   | 1,26 $\pm$ 0,1   |
| Токоферол (витамин Е), мкмоль/л             | 20,0 $\pm$ 1,4    | 14,9 $\pm$ 0,9   | 10,8 $\pm$ 0,5   |
| СОД (супероксиддисмутаза), ед./мл эр. массы | 1127,5 $\pm$ 23,0 | 968,9 $\pm$ 11,2   | 872,7 $\pm$ 11,1   |

Принимая во внимание низкую прогностическую чувствительность указанных биохимических параметров крови для осложнений послеоперационного периода у больных РП и КР, нельзя рекомендовать прогнозирование непосредственных результатов хирургического лечения по вышеуказанным показателям. Тем не менее низкая корреляционная взаимосвязь между отдельными из этих параметров ( $r < 0,3-0,6$ ) показывает, что тесты не являются альтернативными и могут дополнять друг друга, обеспечивая суммарный эффект. Совместное использование комплекса наиболее информативных показателей дает возможность повысить прогностические

возможности лабораторного тестирования крови в контексте с клинической интерпретацией при прогнозировании послеоперационных осложнений и непосредственных результатов хирургического лечения больных РП и КР.

Повышение точности прогнозирования обеспечивается путем создания комплексов информативных показателей:

- 1) ЭПР-параметр  $\alpha$ , витамин Е (токоферол), МДА, ферритин;
- 2) ЭПР-параметр  $\alpha$ , витамин А (ретинол), ОШ,  $\beta_2$ -микроглобулин.

Представленные комплексы тестов разработаны с помощью квадратичного дискриминантного анализа, который позволяет учитывать не только различия в средних значениях показателей биохимического тестирования крови, но и различия во взаимосвязях и взаимозависимостях между избранными показателями в группах больных: 1-я группа — без осложнений; 2-я — с хирургическими и терапевтическими осложнениями послеоперационного периода.

Отобранные тесты минимально коррелируют между собой (не являются взаимозаменяемыми) и максимально — с изучаемой патологией.

## **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Комплексы лабораторных тестов и решающие правила, построенные с использованием квадратичной дискриминантной функции многомерного анализа биохимических показателей крови, отражающих состояние системы ПОЛ — АОС, показателей опухолеассоциированных антигенов и транспортной активности альбумина, пригодны для прогнозирования течения послеоперационного периода у больных РП и КР по дооперационному уровню этих показателей. Метаболические нарушения в тканях больных РП и КР, отражающиеся в биохимических и биофизических показателях крови, являются основой послеоперационных осложнений как хирургического, так и терапевтического профиля.

Использование решающих правил при разделении больных в дооперационном периоде на прогностические классы способствует объективизации индивидуальных показаний к проведению метаболической коррекции в прогностически неблагоприятной группе больных.

Целесообразность разделения больных на прогностические классы с использованием комплекса информативных лаборатор-

ных признаков и его решающего правила обусловлена тем, что при проведении патогенетически обоснованной метаболической коррекции в прогностически неблагоприятной группе больных на дооперационном этапе сокращается пребывание больных РП и КР в стационаре после хирургического лечения и уменьшается необходимость дорогостоящего лечения осложнений. Экономическая эффективность при этом значительно превышает затраты на выполнение лабораторного анализа.

Предложенные комплексы тестов и решающие правила обеспечивают объективную оценку проводимых мероприятий и могут быть использованы для уточнения степени патологии.

## **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ И РЕАГЕНТОВ**

Иммуноферментный анализатор, ЭПР-анализатор сыворотки крови\*, спектрофотометр, спектрофлуориметр, центрифуга лабораторная, весы аналитические; тест-системы для ИФА ферритина и  $\beta_2$ -микроглобулина; хлороформ, ледяная уксусная кислота, гепарин, этиловый спирт, гексан, гептан, изопропанол, серная кислота, тиобарбитуровая кислота, флуоресцеин, токоферол-ацетат, ретинолацетат, дистиллированная вода, спиновая метка 16-доксилстеарат\*.

Контроль качества проводимых исследований осуществляется методами исследования параллельных проб, случайных проб, повторных проб и смешанных проб (Приказ МЗ РБ № 154 от 24 июня 1997 г. «О дальнейшем совершенствовании системы контроля качества клинических лабораторных исследований»).

### **Техника безопасности**

При выполнении методик необходимо соблюдать меры безопасности, описанные в «Основных правилах безопасной работы в лаборатории» (Приказы МЗ РБ № 66 от 12.06.1989 г., № 201 от 19.01.1998 г., № 351 от 16.12.1998 г.), Инструкции по охране труда для КДЛ № 92 (1999), инструкциях по эксплуатации медицинских измерительных приборов.

---

\*см. Методические рекомендации «Метод ЭПР-спектрометрии спин-меченой сыворотки крови в диагностике злокачественных новообразований» / А.А. Машевский, В.И. Прохорова, Т.П. Цырусъ и др.— Минск, 1994.

## ТЕХНОЛОГИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕДЛАГАЕМОГО МЕТОДА

Разработанные комплексы включают отобранные методом пошагового дискриминантного анализа следующие информативные признаки: ЭПР-спектрометрический параметр  $\alpha^*$ , ферритин,  $\beta_2$ -микроглобулин, МДА\*\*, ОШ\*\*, витамин Е\*\*, витамин А\*\*.

Определение концентрации в крови ферритина и  $\beta_2$ -микроглобулина проводится методом иммуноферментного анализа на специализированных анализаторах ИФА с использованием тест-систем фирм-производителей анализаторов.

Определение величины параметра  $\alpha$  проводится с помощью созданного в ГУ «НИИ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» ЭПР-анализатора крови\*.

В основе метода лежит регистрация спектров ЭПР сыворотки крови, в которую добавляется свободнорадикальное соединение — спиновая метка (СМ). В результате специфического связывания метки белками сыворотки крови происходит их фиксация и СМ приобретает ограниченную подвижность, изменяется ее ЭПР-спектр. Специфика изменений белковых компонентов сыворотки крови под влиянием метаболических сдвигов в организме обуславливает изменение способности СМ фиксироваться крупными молекулами\*.

Определение уровня МДА, ОШ, ретинола и токоферола осуществлялось по разработанному нами способу\*\*. Сущность метода заключается в одновременном определении в одном образце крови уровня ДК (измерение интенсивности поглощения в области 233 нм), Д (в области 273 нм), ОШ (спектр флуоресценции раствора липидов в хлороформе — 435 нм), а также концентрации токофе-

---

\*см. Методические рекомендации «Метод ЭПР-спектрометрии спин-меченой сыворотки крови в диагностике злокачественных новообразований» / А.А. Машевский, В.И. Прохорова, Т.П. Цырусъ и др. — Минск, 1994.

\*\*см. Инструкцию «Способ одновременного спектрофотометрического определения содержания конъюгированных диенов и диенкетонов в плазме крови» № 03/076-9212, утверждена МЗ РБ 29.01.1993 г.; патент РФ № 2056056 на изобретение «Способ оценки антиокислительного статуса крови у больных злокачественными заболеваниями» // Изобретения. — 1995. — № 4. — С. 74.

рола и ретинола при длине волны флуоресценции 320 нм и 460 нм соответственно.

Определение концентрации ферритина,  $\beta_2$ -микроглобулина, ЭПР-параметра  $\alpha$ , ОШ, А, Е, активности СОД проводится у больных РП и КР в сыворотке или плазме крови перед оперативным вмешательством. Исследуемые образцы сыворотки или плазмы крови могут храниться при температуре 2–8° С в течение 24 ч. В случае длительного хранения они должны быть разделены на аликвоты и заморожены при температуре –18° С. Исследование ЭПР-параметра  $\alpha$  необходимо проводить в день взятия крови во избежание образования олигомеров белка.

Исходные показатели информативных комплексов тестов способствуют прогнозированию характера течения послеоперационного периода у больных РП и КР на дооперационном этапе.

Решающее правило классификации позволяет отнести конкретного больного в прогностически «благоприятную» или «неблагоприятную» группу. Для конкретной ситуации (случая двух групп) решающее правило состоит в следующем: больной относится к той группе, вероятность принадлежности к которой  $p(j) > 0,5$ .

Диагностическая значимость комплексов тестов для прогнозирования послеоперационных осложнений у больных РП и КР представлена в табл. 2.

Таблица 2

**Диагностическая значимость комплексов тестов для прогнозирования послеоперационных осложнений у больных РП и КР**

| Комплекс тестов                                    | ДЧ, % | ДС, % | ДЭ, % |
|--|-------|-------|-------|
| $\alpha$ , витамин Е, МДА, ферритин                | 84,2  | 81,5  | 82,8  |
| $\alpha$ , витамин А, ОШ, $\beta_2$ -микроглобулин | 76,2  | 85,4  | 80,8  |

*Примечание:* ДЧ — диагностическая чувствительность; ДС — диагностическая специфичность; ДЭ — диагностическая эффективность.

Использование предложенных комплексов тестов позволит прогнозировать послеоперационные осложнения с диагностической эффективностью 80,8–82,8%. Для практического использования разработанного способа прогнозирования создана математическая программа, обеспечивающая прогнозирование послеоперационных

осложнений у онкологических больных в автоматическом режиме на ПЭВМ. При необходимости программа может быть представлена организацией-разработчиком на дискете.

Следует учитывать, что разработанные комплексы лабораторных тестов и решающие правила для их использования являются одним из компонентов при многофакторном прогнозировании результатов лечения онкологических больных. Разделение больных на прогностические классы в дооперационном периоде должно основываться на совместном определении результатов лабораторных и инструментальных исследований в сочетании с клинической симптоматикой. Превышение дискриминантной величины разработанных правил в дооперационном периоде служит дополнительным аргументом для углубленного обследования больного и проведения целенаправленных профилактических мероприятий в группе больных с высоким риском послеоперационных осложнений.

Основываясь на изменениях показателей изученных параметров крови, неспецифическая профилактика возможных осложнений послеоперационного периода должна включать метаболическую коррекцию, направленную на обеспечение повышенных при хирургическом стрессе энергетических требований, блокирование процессов свободнорадикального окисления липидов и оптимизацию выведения эндотоксинов из организма. Это в конечном итоге должно обеспечить избирательную защиту биомембран, снижение вероятности развития патологии хирургического и терапевтического профиля в послеоперационном периоде и повышение эффективности лечения онкологических больных в целом.

## **ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ**

Ошибочные результаты при исследовании физико-химических показателей крови могут быть получены в случае использования реагентов с истекшим сроком годности, неточного пипетирования реагентов и образцов, неправильного забора и хранения образцов крови.

Следует учитывать следующее:

– исследования предлагаемых комплексов тестов необходимо проводить одним и тем же методом в одной лаборатории;



– на изучаемые показатели могут оказывать влияние клинические факторы;

– для правильной клинической оценки необходимо тесное сотрудничество лаборатории и клинического персонала.

Наличие в каждой лаборатории пула контрольных сывороток, которые включаются в число тестируемых образцов при каждой процедуре анализа, дает уверенность в надежности получаемого результата.

*Противопоказания к применению:* не выявлены.