



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **107429** (13) **C2**
(51) МПК (2014.01)
A61B 5/00
G01N 33/50 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2013 13986</p> <p>(22) Дата подання заявки: 02.12.2013</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.12.2014</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 10.06.2014, Бюл.№ 11</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.12.2014, Бюл.№ 24</p>	<p>(72) Винахідник(и): Вінник Юрій Олександрович (UA), Жуков Виктор Іванович (UA), Висоцька Олена Володимирівна (UA), Порван Андрій Павлович (UA), Фам Тхі Хуєн Чанг (UA), Перепада Сергій Віталійович (UA), Моїсеєнко Антон Сергійович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ РАДІОЕЛЕКТРОНІКИ, пр. Леніна, 14, м. Харків, 61166 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: RU 2336814 C2, 10.10.2007 RU 2452373 C1, 10.06.2012 RU 2442983 C1, 20.02.2012 UA 61495 U, 25.07.2011 Использование дискриминантного анализа для диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей / Е.В.Высоцкая, А.Н.Щукин, А.П. Порван, С.Н.Пушкарь // Системы обработки інформації. – 2011. – № 2(92). – С. 234-238</p>
---	--

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ ХВОРИХ НА КОЛОРЕКТАЛЬНИЙ РАК КИШЕЧНИКУ (КРК)

(57) Реферат:

Винахід належить до галузі медицини, а саме до онкології та стосується способу визначення ступеня тяжкості хворих на колоректальний рак кишечника (КРК), згідно з яким у пацієнта у сироватці крові проводять визначення метаболічних маркерних показників обміну речовин: аспарагінової амінотрансферази, аланінової амінотрансферази, білірубину, гамма-глутамілтрансферази, лужної фосфатази, глюкози, креатинфосфокінази, лактатдегідрогенази, сечовини, креатиніну, загального білка, магнію, фосфору, холестерину, альбуміну, заліза, потім на підставі формул дискримінантного аналізу, які мають вигляд

$$DF1=0,001 \cdot X1 + 0,01 \cdot X2 + 0,002 \cdot X3 + 0,047 \cdot X4 - 0,349 \cdot X5 + 0,005 \cdot X6 - 0,009 \cdot X7 + 0,494 \cdot X8 - 0,156 \cdot X9 - 0,029 \cdot X10 + 1,768,$$
$$DF2=0,004 \cdot X1 + 0,017 \cdot X2 - 0,004 \cdot X3 - 0,027 \cdot X4 + 0,311 \cdot X5 + 0,004 \cdot X6 - 0,004 \cdot X7 - 0,535 \cdot X8 - 0,091 \cdot X9 + 0,002 \cdot X10 - 0,972,$$

де X1 - аспарагінова амінотрансфераза (u/l); X2 - аланінова амінотрансфераза (u/l); X3 - білірубін (umol/l); X4 - гамма-глутамілтрансфераза (u/l); X5 - глюкоза (mmol/l); X6 - креатинфосфокіназа (u/l); X7 - креатинін (mmol/l); X8 - фосфор (mmol/l); X9 - холестерин (mmol/l); X10 - альбумін (g/l),

будують територіальну карту, за якою визначають прогноз формування та перебігу КРК.

UA 107429 C2

Спосіб належить до медицини, а саме до онкології й може бути використаний під час оцінювання ступеня тяжкості хворих на колоректальний рак кишечника.

Проблема вивчення патогенезу, ранньої діагностики і оптимізації лікування колоректального раку в багатьох країнах світу, у тому числі і в Україні, є надзвичайно актуальною. В свою чергу в Україні та світі рак кишечника займає 3-тє місце серед онкологічних захворювань після раку легенів та молочної залози. Через несвоєчасну діагностику цього онкологічного захворювання показник смертності хворих, які помирають протягом одного року після встановлення діагнозу, в Україні становить більше 40 %. У розвинених країнах світу, де проводиться обстеження на наявність раку кишечника і передпухлинних станів, цей показник значно нижче. Проте, особливого занепокоєння викликає збільшення нерезектабельних форм раку товстої кишки внаслідок пізньої діагностики захворювання, коли значна частина хворих поступає в клініку з ускладненими формами, що обмежує можливості хірургічного і хіміопроменевого лікування пацієнтів. Це диктує необхідність у вивченні патогенетичних механізмів розвитку КРК і обґрунтуванні використання маркерних метаболічних показників при визначенні КРК на ранній стадії розвитку.

Є відомим спосіб оцінки розповсюдженості колоректального раку (патент РФ № 2336814, МПК А61В5/053 (2006.01), опубл. 27.10.2008), який включає клініко-лабораторне дослідження та додатково проводять діагностику по Р. Фоллю, після чого проводять оцінку отриманих результатів вимірів та при присутності асиметрії в 6-8 парах контрольних-вимірних точках, що перевищує або дорівнює 10 умовним одиницям, вважають рак розповсюдженим та обмежують об'єм хірургічного втручання до паліативного.

Недоліками даного способу є відсутність можливості діагностики ранньої форми злоякісного новоутворення колоректального раку, передракових метаболічних станів та ступеня тяжкості перебігу хвороби.

Найбільш близьким до запропонованої корисної моделі за формальними ознаками є спосіб прогнозування безрецидивної виживаності у хворих з метастазами колоректального раку в печінці після її резекції (патент РФ № 2452373, МПК А 61В5/107, G01N 1/28, опубл. 10.06.2012), який полягає в тому, що для прогнозування безрецидивної виживаності у хворих з метастазами колоректального раку в печінці після її резекції визначають максимальний розмір і кількість метастазів, синхронність метастазів з первинною пухлиною - виявлення метастазів одночасно з первинною пухлиною або протягом 3 міс. після неї, наявність пухлинних клітин в лімфовузлах гепатодуоденальної зв'язки і краї резекції, ступінь диференціювання метастазу. Потім визначають рівень значущості факторів і знаходять відповідне значенню клініко-патологічного фактора число балів, отримані бали підсумовують. Далі визначають експресію СК 20, β -cat, K_i 67 Max, причому для β -cat визначають експресію в ядрі, а для K_i 67 Max - індекс проліферації <30 % або >30 %, потім в залежності від ступеня диференціювання метастазу знаходять рівень значущості молекулярних факторів і відповідні до значення фактора бали, отримані бали підсумовують. Розрахунок прогнозу безрецидивної виживаності проводять за клініко-патологічними і молекулярними чинниками. Спосіб дозволяє здійснити прогнозування рецидиву захворювання після резекції колоректального раку.

Головним недоліком даного способу є відсутність можливості діагностики ранніх форм раку, ступеня тяжкості перебігу захворювання та контролю за ефективністю патогенетичної терапії.

Технічною задачею винаходу, що пропонується, є підвищення ефективності визначення ступеня тяжкості колоректального раку кишечника (КРК) у хворих за рахунок покращення точності діагностики, яка досягається отриманням найбільш інформативних, прогностично значущих, показників формування раку.

Ця задача вирішується наступним чином. У способі оцінювання ступенів тяжкості хворих з КРК, що включає у себе виконання клінічних, лабораторно-інструментальних, рентгенологічних та гістологічних методів дослідження, після чого використовують формулу для прогнозу, згідно з запропонованим способом, проводять додаткове визначення метаболічних маркерних показників обміну речовин у сироватці крові: аспарагінової амінотрансферази, аланінової амінотрансферази, білірубіну, гамма-глутамілтрансферази, лужної фосфатази, глюкози, креатинфосфокінази, лактатдегідрогенази, сечовини, креатиніну, загального білку, магнію, фосфору, холестерину, альбуміну, заліза, потім на підставі формул дискримінантного аналізу, які мають вигляд

$$DF1=0,001*X1+0,01*X2+0,002*X3+0,047*X4-0,349*X5+0,005*X6-0,009*X7+0,494*X8-0,156*X9-0,029*X10+1,768,$$

$$DF2=0,004*X1+0,017*X2-0,004*X3-0,027*X4+0,311*X5+0,004*X6-0,004*X7-0,535*X8-0,091*X9+0,002*X10-0,972,$$

де X1 - аспарагінова амінотрансфераза AST, (u/l); X2 - аланінова амінотрансфераза ALT, (u/l); X3 білірубін BIL ($\mu\text{mol/l}$); X4 – гамма-глутамілтрансфераза GGT, (u/l); X5 - глюкоза GLUC, (mmol/l); X6 - креатинфосфокіназа CK-N, (u/l); X7 - креатинін CREA, (mmol/l); X8 - фосфор PHOS, (mmol/l); X9 холестерину CHOL, (mmol/l); X10 - альбумін ALB, (g/l), будують територіальну карту

5 за якою визначають прогноз формування та перебігу КРК.

Таблиця 1 - канонічні коефіцієнти дискримінантних функцій.

Таблиця 2 - результат класифікації об'єктів.

Таблиця 3 - власні значення дискримінантних функцій.

Таблиця 4 - результат теста λ -Уілкса.

10 На фіг. 1 наведена територіальна карта класифікації об'єктів дослідження.

Символи, що використані на територіальній карті:

1) група в якій, пацієнти із 2-м ступенем важкості КРК (1 група - 80 пацієнтів);

2) група в якій, пацієнти із 3-м ступенем важкості КРК (2 група - 150 пацієнтів);

3) група в якій, пацієнти із 4-м ступенем важкості КРК (3 група - 60 пацієнтів);

15 4) * - центр групи.

На фіг. 2 наведена діаграма розсіяння випадків досліджуваних груп пацієнтів.

Для визначення ступеня тяжкості хворих з КРК були досліджені дані 290 пацієнтів, що були поділені на три групи: 1 група - дані пацієнтів з другим ступенем тяжкості КРК (80 обстежених); 2 група - дані пацієнтів з третім ступенем тяжкості (150 обстежених); 3 група - пацієнти з четвертим ступенем тяжкості КРК (60 обстежених). Усім пацієнтам було проведено комплексне обстеження, яке включало в себе, морфологічні, клінічні та біохімічні клініко-лабораторні дослідження та проведено основний обсяг клінічних досліджень на основі TNM, на підставі яких необхідно визначити найбільш значущі для виявлення приналежності об'єктів (пацієнтів) до однієї з передбачуваних груп.

25 Для вибору значущої для діагностики підмножини ознак використовували метод дискримінантних функцій. Вибраний метод володіє низкою переваг, а саме враховує варіабельність ознак та розглядає їх сукупність, як об'єкти з нормальним розподілом, визначаються коефіцієнти, які відображають питому вагу ознак у формуванні стадій патологічного процесу, тобто фактично встановлюється діагностична інформативність тієї або

30 іншої ознаки. Перед проведенням дискримінантного аналізу попередньо був розрахований оптимальний об'єм вибірки для побудови адекватної математичної моделі. Так, за даними попереднього дослідження було відомо, що серед обстежених пацієнтів, хворих з четвертим ступенем тяжкості КРК було 20,7 % ($\omega = 60/290 \approx 0,207$). При рівні значущості $\gamma=0,95$ та зазначеній

35 граничній похибці вибірки $\Delta_{\omega}=5-6\%$, необхідний об'єм вибірки складає:

$$n_{\omega} = \frac{t^2 \cdot \omega \cdot (1 - \omega)}{\Delta_{\omega}} = 223 \div 341 \text{ особи,}$$

де t - стандартизований коефіцієнт Стьюдента.

З математичної точки зору всі пацієнти розглядались як сукупність об'єктів зі змінними кількісними та якісними показниками.

40 Під час визначення суттєвих для оцінювання ступеня тяжкості КРК ознак використовували карту кодування для 16 діагностичних показників. Ці показники, що в різному ступені відповідали другому, третьому, четвертому ступеню важкості КРК, поставили у відповідність 16-мерному вектору, що враховував наявність та величину кожної ознаки. В 16-мерному просторі при діагностиці трьох стадій КРК отримали 4 області: колом позначені пацієнти з II ступенем

45 важкості захворювання, трикутником - III ступенем важкості й ромбом - IV ступенем важкості КРК.

Результати визначення канонічних коефіцієнтів дискримінантних функцій наведено в таблиці 1.

50 Нестандартизовані коефіцієнти і константи дискримінантного рівняння відображають лінійну регресійну множину відповідних показників, що мають найбільший вплив на ступінь тяжкості хворих з КРК. Зазначенні рівняння дозволяють за відомими значеннями предикторів прогнозувати заздалегідь невідому стадію КРК. Значення канонічних коефіцієнтів дискримінантних функцій відображають загальний вклад показника в сумарний ризик формування та прогресування КРК на визначеній сукупності прогностичних маркерів ризику.

55 На підставі значень двох дискримінантних функцій побудована територіальна карта (фіг. 1).

На територіальній карті визначено розподіл на області, які визначають приналежність до тієї чи іншої групи. При цьому в межах відповідної області вірогідність відношення до даної групи вища, ніж для інших груп. На межах областей вірогідність для пограничних груп є однаковою.

Математична обробка результатів проводилася з використання програми Microsoft Excel 2007 та пакету SPSS 17. Розрахунок методом дискримінантних функцій діагностичних коефіцієнтів дозволив визначити 10 прогностично значущих істотних ознак для діагностики 3-х ступенів тяжкості КРК.

5 Таким чином, якщо відобразити стан пацієнтів з різними ступенями важкості КРК на координатній площині (DF_1 , 0, DF_2) згідно з розрахованими значеннями дискримінантних функцій утворюється три дискримінантні класи (фіг. 2).

10 Точність прогнозування представлена в таблиці 2, де в колонці "Усього" наведена загальна кількість випадків, що фактично належать до відповідної групи: 80 - з другим ступенем важкості, 150-3 третім, 60 - з четвертим. В колонці "Прогнозована приналежність" вказана фактична кількість випадків, що належить до кожної групи. Так, до другого ступеня важкості було помилково віднесено 2 пацієнтів з третім ступенем; до третього ступеня важкості помилково віднесено 2 пацієнтів з другим ступенем і 15 пацієнтів з четвертим ступенем; до четвертого ступеня важкості було помилково віднесено 1 пацієнта з третім ступенем важкості.

15 Аналіз результатів класифікації продемонстрував, що прогноз перебігу КРК відповідно до ступенів важкості зроблено вірно та коректно для 93.4 % всіх обстежених.

Мірою вдалого розподілу на групи були кореляційні коефіцієнти між розрахованими значеннями дискримінантних функцій і показниками приналежності до груп, які наведено в таблиці 3.

20 Отримані власні значення наведено в порядку зменшення їх величин. Величина власного значення пов'язана з дискримінантними можливостями функції: чим більше власне значення, тим краще відмінність. Таким чином, перша функція має найбільші дискримінантні можливості, друга – забезпечує максимальну різницю після першої. Фактичні числові значення, що дорівнюють 2.294 та 0.938, вказують на те, що дискримінантні можливості першої дискримінантної функції в 2.45 разів більше за другу.

25 Для того, щоб визначити чи має вагомий вплив друга функція, необхідно визначити канонічний коефіцієнт кореляції функції. При оцінці значень коефіцієнтів, що дорівнювали 0.835 та 0.696, можливо зробити висновок, що існує високий позитивний зв'язок між ступенем важкості КРК і значенням першої дискримінантної функції, що підтверджується відсотком дисперсії цієї функції - 71 %. Також встановлений задовільний зв'язок між ступенями важкості КРК та значенням другої дискримінантної функції.

30 Додатково був проведений тест "λ-Уїлкса" з метою оцінки вірогідності відмінностей середніх значень дискримінантних функцій між групами. Даний тест продемонстрував, що рівень відмінностей досить значущий ($p < 0.0001$) (таблиця 4). Підтвердимо це декількома клінічними прикладами.

35 Приклад 1. Пацієнт А, історія хвороби № 862, звернувся до поліклінічного відділення Харківського обласного онкологічного центру зі скаргами на підвищення інтенсивності звичних запорів, які супроводжуються здуттям живота, без ознак ендогенної інтоксикації, слабкість, відсутність апетиту. Згідно з проведеними клініко-інструментальними дослідженнями було встановлено: AST-6.0 u/l, ALT-14.0 u/l, BIL-10.7 μmol/l, GGT-1.1 u/l, GLUC-5.5 mmol/l, CK-N-65.0 u/l, CREA-92.0 mmol/l, Phos-1.12 mmol/l, CHOL-6.7 mmol/l, ALB-44.8 g/l.

40 На підставі формул дискримінантного аналізу були розраховані дискримінантні функції: $DF_1(X) = -2.227$, $DF_2(X) = -0.299$. Пацієнт на територіальній карті займає місце у групі з 2-м ступенем тяжкості хворих на КРК, що додатково було підтверджено гістологічним дослідженням біопсійного матеріалу. На основі об'єктивного обстеження, додаткових методів дослідження та консультації спеціалістів було встановлено клінічний діагноз: колоректальний рак кишечника другого ступеня тяжкості.

45 Приклад 2. Пацієнт К, історія хвороби № 1273, звернувся до поліклінічного відділення Харківського обласного онкологічного центру зі скаргами на упорні запори до 3-5 діб, які супроводжуються здуттям живота, відсутність апетиту. На фоні запорів з'являється нудота та ниючого характеру болі в животі. Страждає загальний стан, втома, слабкість, почуття дискомфорту, незначні симптоми інтоксикації та підвищення перистальтики, після дефекації спостерігаються кровотечі та слизові відділення. Згідно з проведеними клініко-інструментальними дослідженнями було встановлено: AS T-16.0 u/l, ALT-13.23 u/l, BIL-3.3 μmol/l, GGT-4.83 u/l, GLUC-6.0 mmol/l, CK-N-101.0 u/l, CREA-55.0 mmol/l, Phos-1.27 mmol/l, CHOL-4.6 mmol/l, ALB-36.5 g/l.

50 На підставі формул дискримінантного аналізу були розраховані дискримінантні функції: $DF_1(X) = -1.083$, $DF_2(X) = 0.198$. Пацієнт на територіальній карті займає місце у групі з 3-м ступенем тяжкості хворих на КРК, що додатково було підтверджено гістологічним дослідженням біопсійного матеріалу. На основі об'єктивного обстеження, додаткових методів дослідження та

60

консультації спеціалістів було встановлено клінічний діагноз: рак прямої кішки третього ступеня тяжкості.

Таким чином, отримані дискримінантні функції дозволяють провести коректну верифікацію ступенів важкості хворих на КРК за 10 інформативними показниками.

5

Таблиця 1

Показник	Одиниці вимірювань	Змінна	Дискримінантна функція	
			1	2
AST	u/l	x_1	0,001	0,004
ALT	u/l	x_2	0,010	0,017
BIL	$\mu\text{mol/l}$	x_3	0,002	-0,004
GGT	u/l	x_4	0,047	-0,027
GLUC	mmol/l	x_5	-0,349	0,311
CK-N	u/l	x_6	0,005	0,004
CREA	mmol/l	x_7	-0,009	-0,004
Phos	mmol/l	x_8	0,494	-0,535
Chol	mmol/l	x_9	-0,156	-0,091
ALB	g/l	x_{10}	-0,029	0,002
Константа			1,768	-0,972

Таблиця 2

		Тяжкість хворих на КРК	Прогнозована приналежність до групи			Усього
			Група 1	Група 2	Група 3	
Першочергова приналежність	Кількість	2 стадія	78	2	0	80
		3 стадія	2	147	1	150
		4 стадія	0	15	45	60
	%	2 стадія	97,5	2,5	0,0	100,0
		3 стадія	1,3	98,0	0,7	100,0
		4 стадія	0,0	25,0	75,0	100,0

Таблиця 3

Функція	Власні значення	% дисперсії	Сукупний %	Канонічна кореляція
1	2,294	71,0	71,0	0,835
2	0,938	29,0	100,0	0,696

Таблиця 4

Тест функцій	Лямбда Уїлкса	χ - квадрат	Ступені вільності, df	Значущість
1 до 2	0,157	523,666	20	0,0001
2	0,516	186,918	9	0,0001

10

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб визначення ступеня тяжкості хворих на колоректальний рак кишечника (КРК), що включає у себе виконання клінічних, лабораторно-інструментальних, рентгенологічних та гістологічних методів дослідження, після чого використовують формулу для прогнозу, який **відрізняється** тим, що у пацієнта проводять додаткове визначення метаболічних маркерних показників обміну речовин у сироватці крові: аспарагінової амінотрансферази, аланінової амінотрансферази, білірубіну, гамма-глутамілтрансферази, лужної фосфатази, глюкози, креатинфосфокінази, лактатдегідрогенази, сечовини, креатиніну, загального білка, магнію, фосфору, холестерину, альбуміну, заліза, потім на підставі формул дискримінантного аналізу, які мають вигляд:

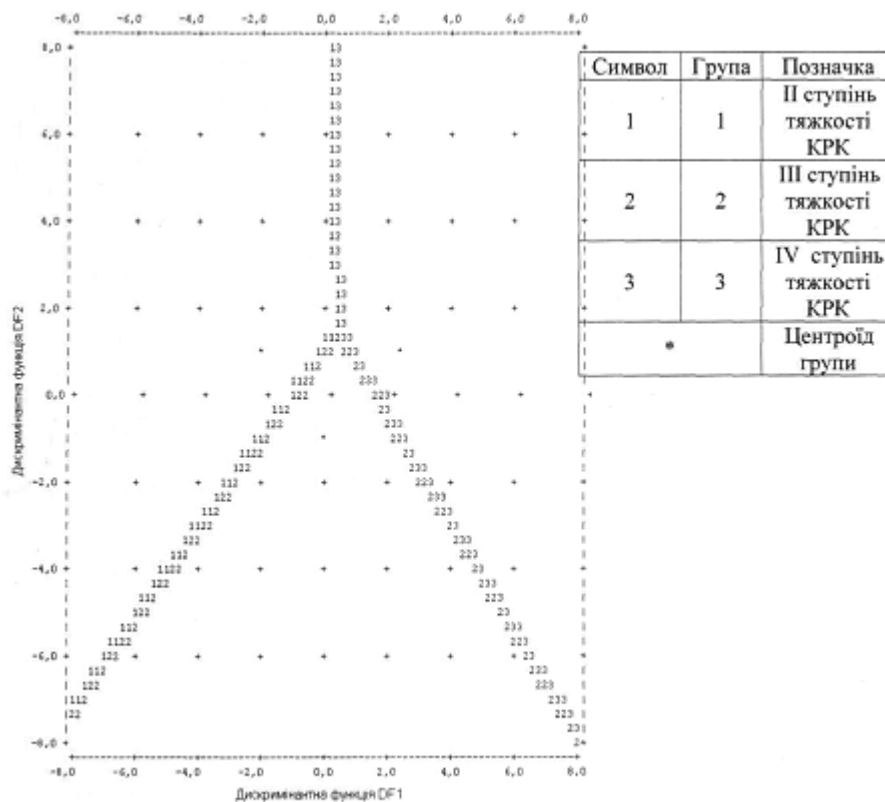
15

20

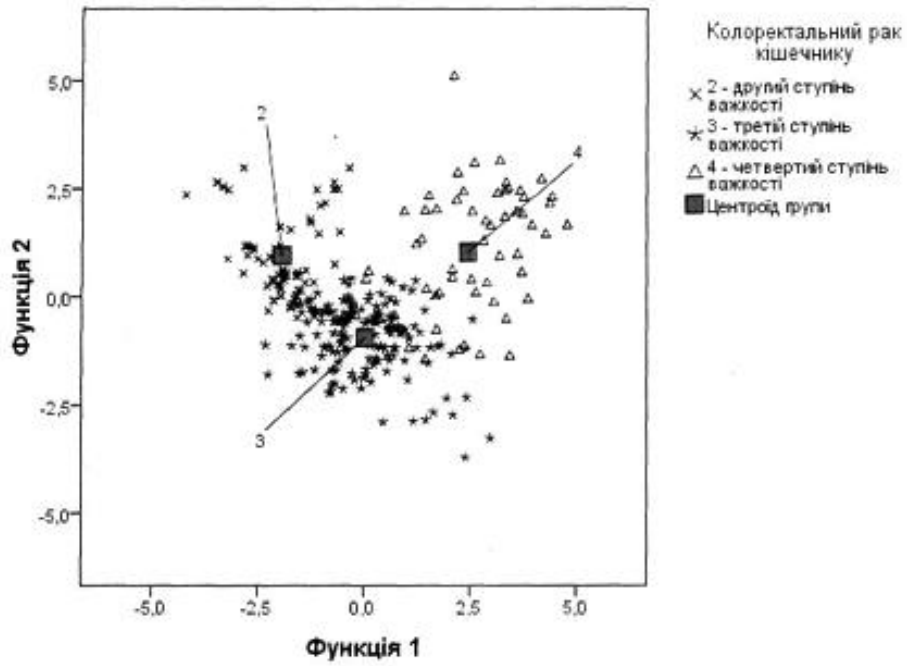
$$DF1=0,001 \cdot X_1 + 0,01 \cdot X_2 + 0,002 \cdot X_3 + 0,047 \cdot X_4 - 0,349 \cdot X_5 + 0,005 \cdot X_6 - 0,009 \cdot X_7 + 0,494 \cdot X_8 - 0,156 \cdot X_9 - 0,029 \cdot X_{10} + 1,768,$$

$$DF2=0,004*X1+0,017*X2-0,004*X3-0,027*X4+0,311*X5+0,004*X6-0,004*X7-0,535*X8-0,091*X9+0,002*X10-0,972,$$

де X1 - аспарагінова амінотрансфераза (u/l); X2 - аланінова амінотрансфераза (u/l); X3 - білірубін (μmol/l); X4 - гамма-глутамілтрансфераза (u/l); X5 - глюкоза (mmol/l); X6 - креатинфосфокіназа (u/l); X7 - креатинін (mmol/l); X8 - фосфор (mmol/l); X9 - холестерин (mmol/l); X10 - альбумін (g/l), будують територіальну карту, за якою визначають прогноз формування та перебігу КРК.



Фіг. 1



Фіг. 2

Комп'ютерна верстка С. Чулій

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601