

ИССЛЕДОВАНИЕ ГАЗОВ МАРКЕРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАТОЛОГИИ ТЕЛА МАТКИ

Т.Ю. КОВАЛЕВА\*, В.В. БИТЮКОВА\*, Т.А. КУЧМЕНКО\*\*, А.А. ШУБА\*\*

\*ИДПО ГБОУ ВПО Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко»,  
Студенческая, 10, Воронеж, Россия, 394036

\*\*Воронежский государственный университет инженерных технологий,  
пр-т Революции, 19, Воронеж, Россия, 394036

**Аннотация.** В настоящее время нет скринингового метода для ранней диагностики и мониторинга рака тела матки. В этом исследовании разработана, унифицирована новая методика поиска газов маркеров с помощью метода пьезокварцевого микровзвешивания. Данное исследование включает три этапа: предварительную подготовку образцов крови с помощью нанесения на пьезорезонаторы модификаторов-сорбентов с высокой селективностью к основным газам, маркерам патогенных процессов, преобразование в цифровой сигнал сенсоров, анализ и обработка данных с помощью информационного пакета программ. Продемонстрированы возможности и перспективность разработанного подхода для обнаружения потенциальных газов маркеров рака эндометрия. Проведен скрининг 48 образцов крови, из них 23 с доброкачественными патологиями тела матки: лейомиома, эндометриоз тела матки, 14 образцов крови с морфологически подтвержденным раком эндометрия и 11 контрольных образцов. Установлено, что по особенностям геометрии, площади «визуального отпечатка» и параметрам эффективности сорбции возможно надежное ранжирование проб на группы в соответствии с их диагностической характеристикой. В результате проведенного исследования обнаружены газы маркеры, которые могут в перспективе использоваться для детектирования заболеваний тела матки.

**Ключевые слова:** микровзвешивание, пьезорезонаторы, массив пьезосенсоров, газы-маркеры, селективное детектирование, биопробы, рак тела матки.

THE STUDY OF GASES MARKERS TO DIAGNOSIS THE PATHOLOGY OF THE UTERINE BODY

T.YU. KOVALEVA\*, V.V. BITYUKOV\*, T.A. KUCHMENKO\*\*, A.A. SHUBA\*\*

\*Voronezh State N.N. Burdenko Medical Academy, Str. Student, 10, Voronezh, Russia, 394036

\*\*Voronezh State University of Engineering Technologies, pr-t Revolutions, 19, Voronezh, Russia, 394036

**Abstract.** At present there is no screening method for early uterus body cancer diagnostics and its monitoring. This research offers the new developed and standardized technique of gases markers by means of piezoquartz micro weighing method. This study includes three stages: preliminary preparation of blood samples by applying them on piezoresistors of modifiers-sorbents with high selectivity to main gases indicating pathogenic processes; conversion of sensors into digital signal; data analysis and processing exploiting the software package. The study demonstrates the opportunities and prospects of the developed approach to search of potential gases-markers of endometrium cancer. Forty eight blood samples have been screened, including eleven control samples and twenty three samples with benign uterus body pathology: leiomyoma, uterus body endometriosis; fourteen samples with endometrium cancer. It has been found that by geometry peculiarities, the size of visual print and sorption efficiency parameters blood samples can be reliably ranked into groups according to their diagnostic specification. The study has resulted in detection of gases-markers which can be prospectively used for uterus body disease diagnostics.

**Key words:** microinvasive, piezoresistors, array of piezosensors, gases-markers, selective detection, biosamples, diagnostics, uterus body cancer.

Несмотря на многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов, посвященных изучению доброкачественных и злокачественных опухолей тела матки, проблема до настоящего времени остается недостаточно решенной [7]. Рак тела матки (РТМ) к концу прошлого столетия приобрел статус ведущей онкогинекологической патологии в экономически развитых странах, считается «болезнью цивилизации» и наиболее распространенным онкогинекологическим заболеванием. Практически во всех странах мира заболеваемость РТМ за последние 2 десятилетия возросла и составляет 15,3-23,5 на 100 тыс. населения. За последние десятилетия отмечается постепенный и неуклонный рост заболеваемости раком тела матки, а также смертности от данной патологии [1]. РТМ является причиной смерти 9-10 женщин из 100 тыс. женского населения в мире [6]. Частота лейомиомы матки среди других гинекологических заболеваний колеблется от 20 до 44%, занимая второе место в структуре гинекологической патологии [2]. Миома матки в пре- и постменопаузе является самостоятельным фактором риска гормонозависимых опухолей. Известно, что

при быстром росте миомы относительный риск саркомы составляет 2,8 [3]. До настоящего времени диагностика и верификация РТМ остается по-прежнему инвазивной, что вызывает необходимость разработки и внедрения в практику доклинических неинвазивных методов исследования [3, 4]. Актуальность разработок сенсорных технологий, особенно в области медицины, обусловлена необходимостью избирательно, с высокой точностью контролировать концентрации веществ в биологических жидкостях. Научные направления работ по исследованию газов маркеров при диагностике РТМ в перспективе должны быть направлены не только на увеличение количества детектируемых веществ, а также на оптимизацию работы прибора, путем повышения чувствительности и селективности датчиков, скорости анализа и обеспечения воспроизводимости результатов измерения.

**Цель исследования** – оптимизация ранней дифференциальной диагностики лейомиомы матки, внутреннего эндометриоза и рака эндометрия с помощью установления корреляции сигналов мультисенсорной системы на основе пьезорезонаторов с селективными покрытиями.

**Материалы и методы исследования.** В качестве измерительных элементов для создания массива пьезосенсоров выбраны пьезокварцевые резонаторы с частотой колебания  $10,0 \pm 0,5$  МГц (ОАО «Пьезо», Москва). Пьезокварцевым резонатором называют электромеханическую резонансную колебательную систему, изготовленную из кварца в определенном конструктивном исполнении.

В качестве покрытий пьезосенсоров выбраны пленки с универсальными сорбционными свойствами: полиэтиленгликоль 2000 (ПЭГ-2000 – сенсор 1), родамин 6 Ж (Р6Ж – сенсор 2), углеродные нанотрубки (УНТ – сенсор 7), тритон X-100 (ТХ-100 – сенсор 3); проявляющие селективность к органическим кислотам – дициклогексан-18-краун-6 (ДЦГ-18-К-6 – сенсор 4), Tween 40 (ТВ – сенсор 5), и аминам – полидиэтиленгликоль сукцинат (ПДЭГС – сенсор 6), бромкрезоловый синий (БКС – сенсор 8).

В качестве объектов исследования выбраны:

1. первичные, вторичные и третичные амины с алкильными и арильными радикалами, уксусная и масляная кислоты, препараты классификации «ч.д.а.», «х.ч.» – индивидуальные тест-вещества, предположительно содержащиеся в крови при деструктивных процессах (газы-маркеры);

2. образцы периферической крови пациенток.

Произведен проспективный рандомизированный анализ медицинской документации по ведению и лечению пациентов гинекологического отделения НУЗ «ДКБ на ст. Воронеж-1 ОАО «РЖД». Для исследования использовали периферическую кровь 48 пациенток. Из них 23 больных с доброкачественными новообразованиями матки, такими как эндометриоз тела матки и лейомиома. 14 пациенток с морфологически подтвержденным РТМ и 11 практически здоровых женщин, составляющих контрольную группу. В процессе исследования сформированы 4 группы больных. Три основные группы и одна контрольная. Критерии включения в исследование: возраст пациенток от 25 до 75 лет, наличие миомы матки, аденомиоза, рака тела матки. В каждой группе произвольно выбраны образцы, которые использовали для построения классификационных моделей (процесс обучения). От всех обследуемых женщин получено информированное согласие на проведение исследований, одобренных этическим комитетом. Забор исследуемой крови проводился из вены, натошак у больных до хирургического вмешательства в количестве 2 мл в стерильные пробирки со стабилизирующими гранулами и притертыми полистерольными крышками. Кровь транспортировали при температуре  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение 15-20 мин и в течение 5-10 минут обрабатывали. Клиническое обследование пациентов этих групп проводилось по стандартным методам диагностики. Это *ультразвуковое исследование с цветным доплеровским картированием* (УЗИ с ЦДК), *компьютерная томография* (КТ), *магнитно-резонансная томография* (МРТ), гистероскопия, лапароскопия. Одним из требований при разработке новых экспрессных способов получения диагностической информации является не только минимизация стадий пробоподготовки, но и обработки аналитической информации для принятия правильного решения.

**Результаты и их обсуждение.** Исследовали состав *равновесной газовой фазы* (РГФ) над биопробами и индивидуальными тест-веществами объемом  $2 \text{ см}^3$  при  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  в статическом режиме на анализаторе газов «MAG-8» (ООО «СенТех», Воронеж). В программном обеспечении «MAG-Soft» фиксировали выходные сигналы пьезосенсоров, отклики системы при сорбции легколетучих веществ во времени с шагом в 1 с в виде хроночастотограмм, аналитические сигналы пьезосенсоров ( $\Delta F_{\text{max},i}$ , Гц) и площадь «визуальных отпечатков» ( $S_{\text{в.о.}}$ , Гц·с) [6], где  $F$  – изменение частоты колебания резонатора, вызванное нанесением плёночного покрытия, Гц.

Для получения дополнительной диагностической информации о пробах и оценки качественного состава РГФ над ними проводили расчет параметров эффективности сорбции  $A_{ij}^{\text{max}}$  по формуле:  $A_{ij}^{\text{max}} = \Delta F_{\text{max},i} / \Delta F_{\text{max},j}$ , где  $i, j$  – маркировка пьезосенсоров в массиве [7].

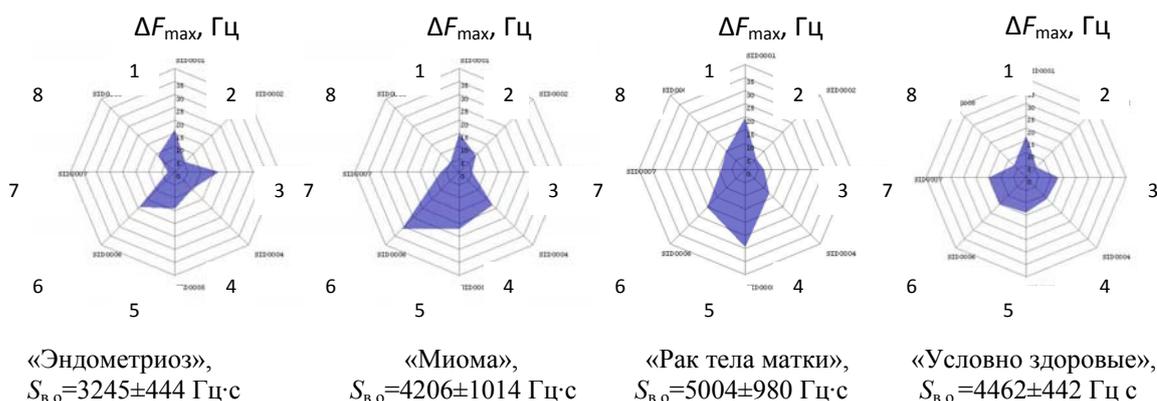
В первичной регистрируемой информации, содержащейся в матрице откликов массива сенсоров, содержится несколько параметров о составе анализируемой пробы. Наиболее простая и доступная для регистрации исходная аналитическая информация (первичная) – это величина максимальных откликов сенсоров за время измерения и площадь фигуры «визуального отпечатка» сигналов сенсоров. Расчетные параметры, получаемые на основе первичной информации (вторичные данные) – также несут аналитическую информацию о природе детектируемых соединений. К вторичным параметрам относится, например, параметр эф-

фективности сорбции  $A_{ij}$ . Оценим информативность и достаточность этих параметров, как достаточных, для ранжирования анализируемых проб на группы: «больные», «условно здоровые».

**1. Ранжирование проб крови по традиционным параметрам пьезокварцевого микровзвешивания.**

По результатам исследования проб крови на анализаторе газов «MAG-8» получены типичные (статистически надежные) «визуальные отпечатки» максимальных сигналов пьезосенсоров для биопроб различных групп пациенток с разной диагностической характеристикой: «миома», «эндометриоз», «РТМ», «условно здоровые» (рис. 1).

Несмотря на некоторые различия в геометрии фигур «визуальных отпечатков» максимальных сигналов пьезосенсоров для проб внутри групп ранжирования, статистически надежная средняя выборка характеризуется определенной формой, величиной площади, позволяющими дифференцировать пробы по составу РГФ над ними по группам [2].



*Рис. 1.* Типичные «визуальные отпечатки» максимальных сигналов пьезосенсоров в матрице при сорбции компонентов РГФ над кровью и их средние площади ( $S_{v.o.}$ , Гц·с) для различных диагностических групп. По кругу отложены номера сенсоров в массиве

Установлено, что для проб из группы с меткой «эндометриоз» максимальный аналитический сигнал характерен для пьезосенсора с пленкой ПДЭГС и меньше равновеликие в пределах погрешности измерения значения аналитических сигналов пьезосенсоров с пленками ПЭГ-2000, ТХ-100 и Tween-40, что свидетельствует о наличии алифатических аминов, кислот и других классов легколетучих органических соединений (альдегиды, спирты) в РГФ над пробами крови [7]. Для проб с диагностической характеристикой «миома» максимальные сигналы характерны для пьезосенсоров с пленками ПДЭГС, Tween-40, ПЭГ-2000 и ДЦГ-18-К-6, что указывает на преобладание в РГФ над пробами – алифатических кислот. Для проб из группы «РТМ» отличительной особенностью является наибольшее значение сигнала пьезосенсора с пленкой Tween-40, и уменьшение сигналов пьезосенсоров с пленками ПДЭГС, ПЭГ-2000, ДЦГ-18-К-6 и БКС, что указывает на наличие в РГФ над пробами крови различных классов – летучих органических соединений с преобладанием алифатических кислот, аминов различного строения, в том числе ароматических (значительный сигнал пьезосенсора с пленкой БКС) как следствие выраженных деструктивных процессов, происходящих в организме.

Геометрия «визуального отпечатка» максимальных сигналов матрицы пьезосенсоров для группы «условно здоровые» и других групп существенно отличаются. Минимальные значения откликов характерны для пьезосенсоров с пленками БКС и Р6Ж, что указывает на отсутствие значительных количеств органических аминов и кислот в *равновесной газовой фазе* (РГФ) над пробами и наличие летучих веществ других классов органических соединений. Об общем содержании легколетучих веществ в РГФ над пробами можно судить по значению площади «визуальных отпечатков» максимальных сигналов пьезосенсоров ( $S_{v.o.}$ , Гц·с) (рис. 1).

Установлено, что происходит увеличение значения многомерного аналитического сигнала массива пьезосенсоров для РГФ над пробами в ряду «эндометриоз», «миома», «РТМ» для большинства проб из групп, что связано с увеличением содержания выбранных групп легколетучих соединений. Однако, в каждой группе присутствуют пробы с экстремальными (минимальными и максимальными) значениями суммарного аналитического сигнала пьезосенсоров, следовательно по этому параметру они были отнесены в группу с неверной диагностической характеристикой. Такие выбросы могут быть объяснены сильным влиянием матрицы биопробы, связанным, в том числе с изменением состава крови за счет приема медицинских препаратов, наличия других заболеваний и процессов, возрастных изменений (изменение гормонального фона), что приводит к изменению содержания летучих веществ в РГФ над ней. Кроме того, по значению площади «визуального отпечатка» максимальных сигналов пьезосенсоров а РГФ проб из группы «условно здоровые» соответствуют группам с метками «миома» и «РТМ», т.е. в РГФ над биопробами присутствует большое количество различных летучих органических соединений. Поэтому проводить скрининг-оценку состояния пробы («болен»/«здоров») только по этому аналитическому сигналу массива пьезосенсоров невозможно.

Таким образом, дифференциация проб, при исследовании состава РФГ над ними на группы с метками «эндометриоз», «миома», «РТМ» по особенностям геометрии и величинам площади «визуальных отпечатков» максимальных сигналов массива пьезосенсоров (первичная аналитическая информация) возможна, однако для увеличения надежности ранжирования по результатам единичного измерения необходимо применить дополнительные (вторичная аналитическая информация) параметры микровзвешивания.

Для исследуемых групп проб с различными метками рассчитаны наиболее информативные параметры представлены в табл. 1

Таблица 1

**Диапазон значений параметров эффективности сорбции ( $A_{ij}^{max}$ ) РФГ над пробами из различных диагностических групп**

Диагностическая оценка	$A_{53}^{max}$	$A_{13}^{max}$	$A_{56}^{max}$	$A_{17}^{max}$	$A_{34}^{max}$
«Миома»	0,7 – 5,7	<b>0,8 – 4,2</b>	0,6 – 0,9	1,2 – 4,0	<b>0,2 – 1,7</b>
«Рак тела матки»	1,1 – 4,6	<b>0,6 – 4,8</b>	<b>0,8 – 1,6</b>	2,3 – 8,5	<b>0,3 – 1,8</b>
«Эндометриоз»	<b>0,3 – 1,0</b>	0,7 – 1,8	0,2 – 0,8	3,0 – 6,0	1,4 – 2,2
«Условно здоровые»	1,0 – 1,2	1,1 – 1,3	0,7 – 0,9	1,0 – 3,2	1,1 – 1,4

Установлено, что по совокупности параметров  $A_{34}$ ,  $A_{13}$  с высокой надежностью могут быть выделены пробы из группы «миома», а при дополнении к ним параметра  $A_{56}$  – идентифицируются пробы из группы «РТМ». При этом характерным для «эндометриоза» является только параметр  $A_{53}$ . Следовательно, самым надежным и специфичным для выделения проб с злокачественными процессами является параметр  $A_{56}$ , который встречается в данной группе и является диагностическим критерием (табл. 1).

Известно, что при повреждениях тканей, в том числе деструктивными процессами, в острой фазе наблюдается ярко выраженный некомпенсированный метаболический ацидоз крови, что связано с образованием органических кислот из-за высокой концентрации активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов, а по мере развития компенсации – рН крови повышается [9]. Поэтому параметр  $A_{56}$  имеет еще и дополнительное диагностическое значение, так как фактически отражает соотношение органических кислот и аминов в РФГ над пробами. Для проб из группы «условно здоровые» значение параметра  $A_{56}$  равно  $0,8 \pm 0,1$ , что соответствует небольшому избытку полярных соединений в газовой фазе над пробой. При  $A_{56}$  меньше 0,3 в РФГ над пробами присутствует избыток алифатических аминов, что характерно для протекания глубоких деструктивных процессов и сильных структурных изменениях в тканях. По этому критерию выделяются пробы из групп «эндометриоз» с признаками миом малых форм и «РТМ». Ранее показано, что некоторые из рассчитанных параметров являются идентификационными для веществ-маркеров состояния (аммиак, триэтиламин, уксусная кислота) [5].

Совпадение значений идентификационных параметров с табличными в пределах погрешности свидетельствует о наличии данного вещества-маркера в РФГ над биопробой с надежностью 99%. Так параметру  $A_{13}$  в РФГ над кровью из групп «миома» обнаружены уксусная кислота. По параметру  $A_{34}$  идентифицируется аммиак в РФГ над некоторыми пробами из группы «миома» ( $A_{34}=0,3$ ). По идентификационным параметрам  $A_{ij}$  в РФГ над пробами крови группы «условно здоровые» не обнаружены уксусная кислота, триэтиламин и аммиак на минимальном уровне определения (идентификации).

**2. Ранжирование проб крови по первичным и вторичным аналитическим сигналам «электронного носа».** Для более детального ранжирования проб на группы предложены новые параметры микровзвешивания, отражающие сразу совокупность нескольких сигналов сенсоров – это геометрические параметры фрагментов фигуры «визуальных отпечатков». Данные параметры отражают особенности взаимодействия газов и паров с тремя различными пленками сорбентов одновременно, что позволяет, в зависимости от природы пленок, использовать их как более специфические интегральные характеристики взаимодействия, выраженные в числовой форме. Поскольку основным продуктом липидного распада являются амины различного строения, то для расчета новых вторичных аналитических сигналов (параметров) использовали сигналы сенсоров с пленками ПДЭГС, МУНТ, БКС, проявляющие чувствительность к аминам.

В качестве новых параметров микровзвешивания выбраны:

- параметр  $m$  – рассчитываемый как соотношение проекций сигналов сенсоров с пленками БКС и ПДЭГС на сигнал сенсора с пленкой МУНТ (рис. 2);
- параметр  $\alpha$  – угол между этими проекциями, выраженный в рад. (рис. 2).

Новые параметры рассчитывали по аналитическим сигналам сенсоров ( $\Delta F_i$ , Гц) с точностью до десятых ед. по формулам (2, 3):

$$m = \frac{\sqrt{\Delta F_{\text{ПДЭГС}}^2 + \Delta F_{\text{МУНТ}}^2 - \Delta F_{\text{ПДЭГС}} \cdot \Delta F_{\text{МУНТ}} \cdot \sqrt{2}}}{\sqrt{\Delta F_{\text{БКС}}^2 + \Delta F_{\text{МУНТ}}^2 - \Delta F_{\text{БКС}} \cdot \Delta F_{\text{МУНТ}} \cdot \sqrt{2}}} \quad (2)$$

$$\alpha = \arcsin\left(\frac{\Delta F_{\text{ПДЭГС}} \cdot \sqrt{2}}{2 \cdot \sqrt{\Delta F_{\text{ПДЭГС}}^2 + \Delta F_{\text{МУНТ}}^2 - \Delta F_{\text{ПДЭГС}} \cdot \Delta F_{\text{МУНТ}} \cdot \sqrt{2}}}\right) + \arcsin\left(\frac{\Delta F_{\text{БКС}} \cdot \sqrt{2}}{2 \cdot \sqrt{\Delta F_{\text{БКС}}^2 + \Delta F_{\text{МУНТ}}^2 - \Delta F_{\text{БКС}} \cdot \Delta F_{\text{МУНТ}} \cdot \sqrt{2}}}\right) \quad (3)$$

$m = \text{CB/BA}$

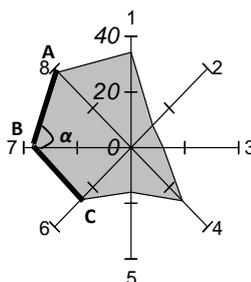


Рис. 2. Графическая интерпретация новых вторичных параметров пьезокварцевого микровзвешивания на фигуре «визуального отпечатка» сигналов сенсоров

В качестве исходного (нулевого) критерия для ранжирования проб приняты значения этих параметров для группы «условно здоровые». Параметр  $m$  для этой группы равен  $1,9 \pm 0,9$ , поэтому отклонением от нормы можно считать значение  $m$  больше 3,0 и меньше 1,0. По этому критерию из группы «больные» могут быть выделены пробы с диагнозами «миома», в том числе с начальными признаками эндометриоза, «РТМ». Более значимые отклонения наблюдаются для некоторых проб из группы «РТМ» – параметр  $m$  для них больше 5,0. По параметру  $\alpha$  из группы «больные» выделяются и разделяются пробы с диагнозами «миома» и «РТМ», при чем для проб из группы «миома» наблюдаются отрицательные отклонения значения этого параметра ( $\alpha < 1,4$ ) от группы «условно здоровые» ( $\alpha = 2,0 \pm 0,4$ ), а для проб из группы «РТМ» положительные ( $\alpha > 2,5$ ), что подтверждает высокие дифференцирующие свойства этого вторичного параметра. По новым параметрам пьезокварцевого микровзвешивания, учитывающим особенности геометрии «визуальных отпечатков» и отражающим специфичность взаимодействия данной смеси паров с тремя различными пленками, возможно дифференцировать пробы с выраженными клиническими признаками для групп «миома» и «РТМ» в группе «условно здоровые». Еще более надежное ранжирование может быть проведено по совокупности нескольких параметров микровзвешивания.

Для получения максимальной диагностической информации необходимо применять современные методы обработки многопараметрической информации [9, 12]. Для этого применен один из широко распространенных в практике методов хемометрики для обработки данных анализа биопроб, других многокомпонентных объектов переменного состава – метод главных компонент (МГК).

**3. Построение МГК модели для классификации проб крови.** Главная задача МГК – перевод экспериментальных данных в систему координат (структуру), позволяющую рассматривать их независимыми друг от друга и тем самым повысить специфичность (индивидуальность) их для аналитической оценки полученных данных. Это приводит также к уменьшению размерности матрицы данных за счет использования только первых главных компонент, наиболее значимых для формирования конечной структуры данных, при этом более старшие компоненты описывают шумы в системе. Таким образом, происходит сжатие полученных при измерении данных до наиболее информативного набора. Также одним из достоинств МГК является возможность исследования зависимостей между всеми переменными одновременно и установления степени взаимного влияния их друг на друга [8]. На первом этапе обработки в качестве входных параметров использовали всю матрицу переменных – традиционные и дополнительные, новые параметры микровзвешивания. Полученная модель характеризуется плохими дискриминирующими свойствами: объясненная дисперсия для первых двух главных компонент составила 67%, установлена сильная закооррелированность переменных, вследствие чего пробы из разных групп невозможно выделить в отдельные области. Такая ситуация характерна для переопределенности или сильной зашумленности модели, поэтому, чтобы улучшить ее, необходимо выделить наиболее значимые, некоррелирующие между собой переменные и исключить грубые выбросы из выборки результатов. Для этого из первоначального набора переменных были выбраны параметры, для которых значения взвешенных коэффициентов в МГК-модели – максимальны, а также удалены результаты для 7-ми проб из выборки, так как для них значения

собственных дисперсий превышали допустимые пределы, рассчитанные для модели при доверительной вероятности  $p=0.95$ . На следующем этапе проводили МГК-моделирование оставшейся выборки проб по оптимальным параметрам, в результате получена оптимизированная модель с пятью главными компонентами. Объясненная дисперсия для первых двух главных компонент составила 81%. Это означает, что с помощью выбранных параметров можно достаточно полно описать всю структуру данных. Кроме того, высокая корреляция объясненной и проверочной дисперсии свидетельствует о небольшой ошибке модели при прогнозе (рис. 3).

На графике счетов оптимизированной модели по первой главной компоненте можно выделить две большие группы, внутри которых выделяются несколько подгрупп по второй главной компоненте (рис.3).

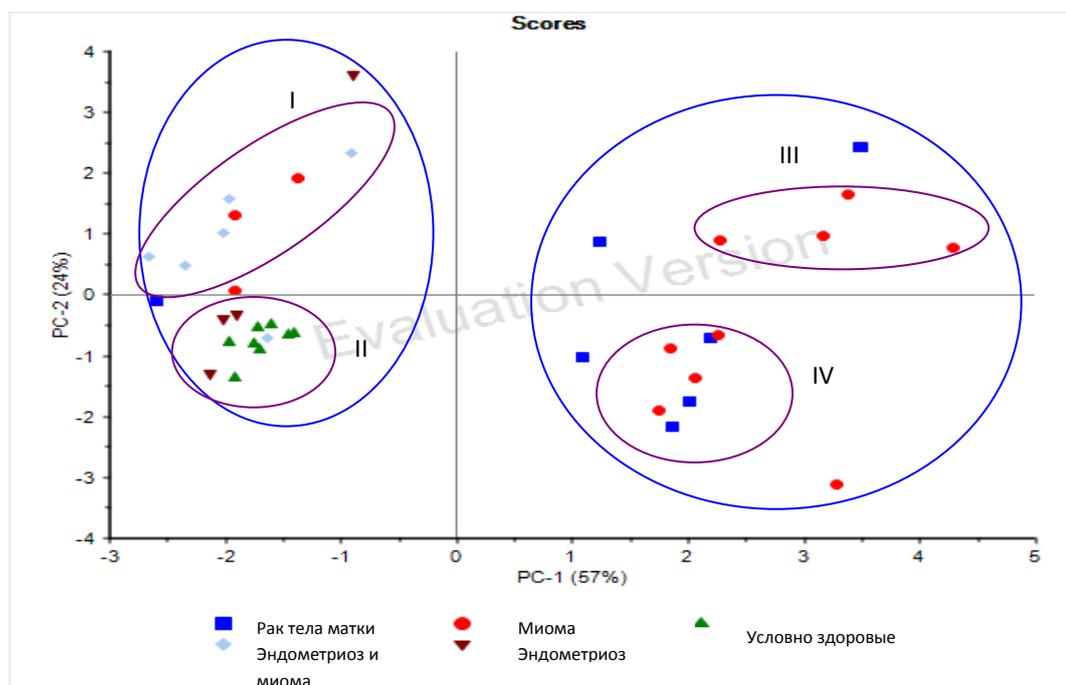


Рис. 3. Графики зависимостей объясненной (1) и проверочной (2) дисперсии от числа главных компонент

В подгруппу I (рис. 3) выделяются пробы с диагнозом «эндометриоз» в сочетании с миомами малых форм, также в эту группу попадают 2 пробы с диагнозом «миома» в начальной стадии. Во II подгруппу попадают пробы из групп «условно здоровые» и «эндометриоз» – начальные признаки, что свидетельствует о близости состава РГФ над пробами из этих групп. III и IV подгруппы формируют пробы с диагнозами «миома» и «РТМ», причем в III подгруппу выделяются только пробы с диагнозом «миома», т.е. у этой группы состав РГФ над пробами характерен для доброкачественных новообразований, в IV группе близкий состав РГФ над пробами с диагнозом «миома» и «РТМ» может свидетельствовать о потенциальной возможности перехода из доброкачественной в злокачественную опухоль.

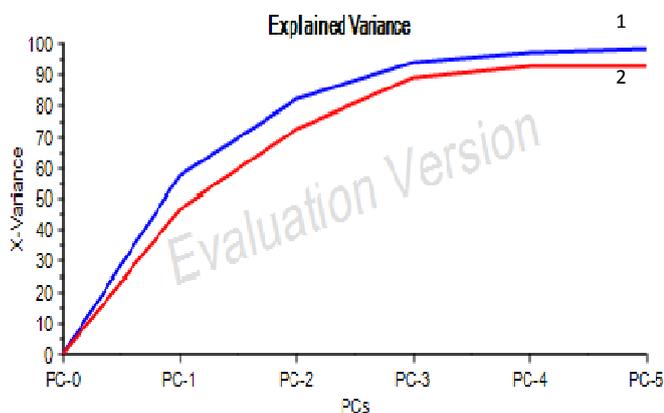


Рис. 4. График счетов оптимизированной МГК-модели для проб крови

Пробы из группы «РТМ» неоднородно распределены на всем графике счетов, что указывает на сильные различия в РФФ над пробами из этой группы, и в большей степени зависит от степени тяжести болезни, наличия сопутствующих отягощающих патологий. Для установления взаимосвязи между распределением проб на графике счетов и параметрами пьезокварцевого микровзвешивания необходимо рассмотреть график нагрузок оптимизированной модели. Из графика нагрузок (рис. 5) установлено, что максимальное влияние на модель оказывают параметр эффективности сорбции  $A_{53}$ , аналитические сигналы сенсоров с пленками TX-100 и БКС, а также новый параметр геометрии «визуального отпечатка»  $m$ .

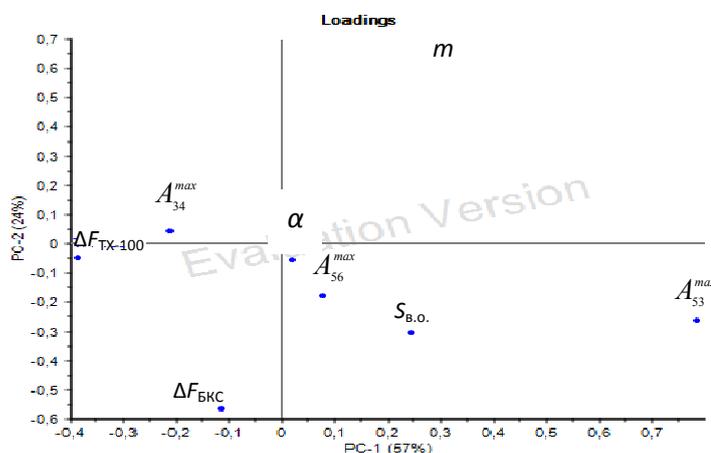


Рис. 5. График нагрузок оптимизированной МГК-модели для проб крови

При этом на выделение группы «условно здоровые» максимальное влияние оказывают абсолютные значения сигналов сенсоров с пленками TX-100 и БКС, на выделение группы «эндометриоз» также влияет параметр  $A_{34}$ . Для проб из группы «миома» максимальное влияние оказывает новый параметр  $m$ , для проб из группы «РТМ» также существенными являются значение площади «визуального отпечатка» и параметр  $A_{56}$ . Таким образом, по первым двум главным компонентам возможно отделить пробы с доброкачественными или злокачественными опухолями от других патологий, а также выделить пробы без исследуемых патологий или с начальными признаками эндометриоза [10-12]. Для практического применения полученных результатов при наличии дополнительной диагностической информации с применением анализатора газов с методологией «электронный нос» на основе массива химических – пьезосенсоров необходимо оценить прогнозные характеристики методики анализа РФФ над пробами крови. Для этого применим для обработки полученных данных регрессионный анализ.

**4. Построение регрессионной модели скрининг-диагностики состояния проб крови.** Для оценки возможности применения метода пьезокварцевого микровзвешивания для диагностики патологических состояний по крови предварительно проводили тренинг или обучение системы на выборке биопроб с установленными диагнозами по стандартным методам (УЗИ, гистероскопия, клиническое исследование крови). Одним из возможных способов обработки данных с целью прогнозирования значений для проб, не вошедших в обучающую выборку является метод *регрессии на главные компоненты* (РГК). Метод РГК относится к методам многомерной калибровки, которые исследуют два и более набора данных, иначе эти методы можно назвать многомерным моделированием [8]. Многомерное моделирование проводят в две стадии – калибровка и предсказание. Метод HUR можно рассматривать как двухэтапную процедуру: сначала с помощью метода главных компонент преобразуется исходная матрица сигналов сенсоров, а затем полученные векторы счетов используются в многомерной линейной регрессии. В качестве прогнозирующего фактора для экспресс-оценки состояния проб крови выбран критерий «здоровье», который кодировали значениями «-1» для пациенток с патологиями и «+1» для группы «условно здоровые». Для построения регрессионной модели были сформированы обучающая и проверочная выборки. Для обучающей выборки в случайном порядке выбран представительный набор из 19 проб крови пациенток с различными патологиями (эндометриоз – 6, миома – 5, РТМ – 4) и условно здоровых (4). В качестве переменных для всей выборки выбраны оптимальные параметры микровзвешивания, определенные ранее для проб крови по методу главных компонент. Многомерный массив данных для обучающей выборки предварительно автошкалирован. Для оценки проверочной дисперсии применили метод полной перекрестной проверки.

По результатам анализа получили модель с хорошими прогнозирующими свойствами. Объясненная и проверочная дисперсия для первых двух главных компонент РГК-модели составили 82 и 58% соответственно. Необходимо отметить, что значение проверочной дисперсии около 60% невелико, но оно сильно зависит от метода проверки и может быть увеличено при изменении количества проб в обучающей выборке и применении тестового набора для проверки ранжирования проб. Из-за ограниченного объема исследованных

проб крови полученные значения дисперсии считали удовлетворительными. Распределение образцов на графике счетов идентично МГК-модели (рис. 4), так как применяли один и тот же набор переменных.

Для оценки влияния переменных рассчитаны их коэффициенты регрессии в модели (табл. 2).

Таблица 2

**Взвешенные регрессионные коэффициенты переменных модели для двух главных компонент**

Номер ГК	Переменные							
	$A_{34}^{max}$	$A_{53}^{max}$	$A_{56}^{max}$	$m$	$\alpha$	$S_{в.о.}$	$\Delta F_{ТХ-100}$	$\Delta F_{БКС}$
1	0,021	0,111	-0,053	0,098	0,075	<b>-0,343</b>	<b>0,195</b>	0,104
2	0,056	<b>-0,234</b>	0,043	<b>0,244</b>	-0,034	<b>0,314</b>	0,010	0,065

Максимальное значение коэффициентов для первой главной компоненты у переменных  $S_{в.о.}$  и  $\Delta F_{ТХ-100}$ , для второй ГК помимо  $S_{в.о.}$  значимое влияние оказывают параметры  $A_{53}$  и  $m$ . Вклад этих переменных в прогнозирование фактора «здоровья» максимален для данной модели. В целом значения регрессионных коэффициентов для всех параметров выше уровня значимости, поэтому для дальнейшей процедуры предсказания использовали всю выбранную группу переменных.

**5. Проверка правильности предложенного способа получения диагностической скрининг-информации.** Построенную регрессионную модель применяли для процедуры предсказания фактора «здоровье» для проб крови из проверочной выборки. Проверка производилась для 31 пробы, которые также продиагностированы стандартными методами анализа. По результатам обработки матрицы данных, полученных при анализе РГФ над кровью по РГК-модели получены прогнозируемые (модель) и референтные (стандартные методы диагностики) значения, позволяющие отнести состояние проб к группам «здоровые» или «больные».

Процент совпадения результатов, полученных с использованием «электронного носа» на основе 8 пьезосенсоров и обработкой результатов с помощью РГК-модели, со стандартными методами составляет 94 %. *Чувствительность* (Ч) и *специфичность* (С) предлагаемого способа получения диагностической скрининг-информации рассчитывали по формулам (4), (5):

$$Ч = n_{пп} / (n_{ло} + n_{пп}), \quad (4)$$

$$С = n_{по} / (n_{лп} + n_{по}), \quad (5)$$

где  $n_i$  – число испытаний с  $i$ -тым результатом: ПП – правильный положительный, ПО – правильный отрицательный, ЛО – ложный отрицательный, ЛП – ложный положительный.

Чувствительность и специфичность предлагаемого скрининг способа оценки состояния проб крови составляет 88 и 75% соответственно. Использование регрессионной модели для обработки результатов анализа РГФ над биопробами массивом пьезосенсоров в дополнение к стандартным анализам крови позволяет высоко специфично получить экспрессную диагностическую информацию о наличии патологии в организме.

**Выводы:**

1. В настоящем исследовании применена новая методология поиска газов-маркеров для диагностики опухолей тела матки, сенсорной системы типа «электронный нос». Данное исследование включало 3 этапа: предварительное нанесение на пьезорезонаторы модификаторов-сорбентов с высокой селективностью к основным газам, маркерам патогенных процессов, преобразование в цифровой сигнал сенсоров, анализ и обработка данных с помощью информационного пакета программ.

2. Исследуя образцы крови, по доступной аналитической информации мультисенсорной системы и ее сочетаниям (форма, площадь «визуального отпечатка» и параметры эффективности сорбции) при четко регламентированных условиях измерения, можно экспрессно получить диагностическую информацию о заболеваниях тела матки, а так же оценить состояние биопробы «условно здоровые», что и составляет главную концепцию тест-методов анализа.

3. Продемонстрированы возможности и перспективность разработанного подхода для обнаружения газов-маркеров при скрининге рака тела матки.

**Литература**

1. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женских половых органов // Опухоли женской репродуктивной системы. 2009. 1-2. С. 76–80.
2. Бельский В.Е. Солюбилизация газов и насыщенных паров в биологических средах // Химико-фармацевтический журнал. 2000. Т. 34. № 11. С. 42–45.
3. Бохман Я.В. Лекции по онкогинекологии. М., 2007. 304 с.
4. Краснощекова Г.И. Современные цитологические дифференциально-диагностические критерии злокачественных опухолей тела матки. Дис. канд. мед. наук. М., 2005. 25 с.
5. Кучменко Т.А., Шуба А.А., Бельских Н.В. Пример решения идентификационных задач в методе пьезокварцевого микровзвешивания смесей некоторых органических соединений // Аналитика и контроль.

2012. Т. 16. № 2. С. 151–161.

6. Сидоренко Ю.С., Левченко Н.Е. Органосохраняющие и функционально-щадящие операции в онкогинекологии. Тез. докл. науч.- практ. конференции «Лечение рецидивов и метастазов злокачественных опухолей» М., 2003. С. 453–456.

7. Хадарцев А.А., Еськов В.М., Козырев К.М., Гонтарев С.Н. Медико-биологическая теория и практика: Монография / Под ред. В.Г. Тыминского. Тула: Изд-во ТулГУ – Белгород: ЗАО «Белгородская областная типография», 2011. 231 с.

8. Gaspar E.M., Lucena A.F., Duro da Costa J., Chaves das Neves H. Organic methabolites in exhaled human breath – a multivariate approach for identification of biomarkers in lung disorders // J. Chromatogr. A. 2009. V. 1216. № 14. P. 2749–2756.

9. Информационные технологии в медицине: Монография / Хадарцев А.А. [и др.] [науч. Ред. А.А. Хадарцева]. Тула, 2006. 272 с.

10. Кидалов В.Н., Хадарцев А.А. Тезиография крови и биологических жидкостей. Тула: Тульский полиграфист, 2009. 244 с.

11. Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Багаутдинов Ш.М., Четкин А.В. Постоянство непостоянного в тезиограммах препаратов крови (к стандартизации исследований кристаллизации биологических жидкостей) // Вестник новых медицинских технологий. 2008. № 4. С. 7–13.

12. Еськов В.М., Зилов В.Г., Хадарцев А.А. Новые подходы в теоретической биологии и медицине на базе теории хаоса и синергетики // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2006. Т. 5. № 3. С. 617–622.

### References

1. Aksel' EM. Statistika zlokachestvennykh novoobrazovaniy zhenskikh polovykh organov. Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy. 2009;1-2:76-80. Russian.

2. Bel'skiy VE. Solyubilizatsiya gazov i nasyshchennykh parov v biologicheskikh sredakh. Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal. 2000;34(11):42-5. Russian.

3. Bokhman YaV. Lektsii po onkoginekologii. Moscow; 2007. Russian.

4. Krasnoshchekova GI. Sovremennye tsitologicheskie differentsial'no-diagnosticheskie kriterii zlokachestvennykh opukholey tela matki [dissertation]. Moscow (Moscow region); 2005. Russian.

5. Kuchmenko TA, Shuba AA, Bel'skikh NV. Primer resheniya identifikatsionnykh zadach v metode p'ezokvartseвого mikrovzveshivaniya smesey nekotorykh organicheskikh soedineniy. Analitika i kontrol'. 2012;16(2):151-61. Russian.

6. Sidorenko YuS, Levchenko NE. Organosokhranyayushchie i funktsional'no-shchadyashchie operatsii v onkoginekologii. Tez. dokl. nauch.- prakt. konferentsii «Lechenie retsidivov i metastazov zlokachestvennykh opukholey». Moscow; 2003. Russian.

7. Khadartsev AA, Es'kov VM, Kozyrev KM, Gontarev SN. Mediko-biologicheskaya teoriya i praktika. Tula: Izd-vo TulGU – Belgorod: ZAO «Belgorodskaya oblastnaya tipografiya»; 2011. Russian.

8. Gaspar EM, Lucena AF, Duro da Costa J, Chaves das Neves H. Organic methabolites in exhaled human breath – a multivariate approach for identification of biomarkers in lung disorders. J. Chromatogr. A. 2009;1216(14):2749-56.

9. Informatsionnye tekhnologii v meditsine: Monografiya / Khadartsev A.A. [i dr.] [nauch. Red. A.A. Khadartseva]. Tula; 2006. Russian.

10. Kidalov VN, Khadartsev AA. Teziografiya krovi i biologicheskikh zhidkostey. Tula: Tul'skiy poligrafist; 2009. Russian.

11. Kidalov VN, Khadartsev AA, Bagautdinov ShM, Chechetkin AV. Postoyanstvo nepostoyannogo v teziogrammakh preparatov krovi (k standartizatsii issledovaniy kristallizatsii biologicheskikh zhidkostey) [Constancy changeable in tesiogramms preparations of blood (to standardization of researches of crystallization of blood)]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2008;4:7-13. Russian.

12. Es'kov VM, Zilov VG, Khadartsev AA. Novye podkhody v teoreticheskoy biologii i meditsine na baze teorii khaosa i sinergetiki. Sistemnyy analiz i upravlenie v biomeditsinskikh sistemakh. 2006;5(3):617-22. Russian.