

УДК 618.146-006-074/-078

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ НОВОГО ЛЕКТИНОИММУНОФЕРМЕНТНОГО МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

А.А. Булгаков¹, О.М. Родионова², И.Ю. Петрова³, М.Г. Елисейкина³, А.Ю. Родионов⁴, В.И. Апанасевич⁵¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (690022 г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159),² Поликлиника № 8 (690048 г. Владивосток, ул. Вострецова, 4), ³ Институт биологии моря ДВО РАН (690041 г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17), ⁴ Дальневосточный государственный технический университет (690990 г. Владивосток, ул. Пушкинская, 10); ⁵ Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)**Ключевые слова:** рак шейки матки, лектиноиммуноферментный метод, лектины, раковоэмбриональный антиген.

На материале 120 наблюдений оценена эффективность лектиноиммуноферментного метода дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований шейки матки. Анализировалось содержание лектинсвязанных раковоэмбриональных и раковоэмбриональноподобных антигенов в вагинальном секрете. Для этого был использован выделенный авторами маннансвязывающий лектин дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus*. Установлены статистически достоверные различия уровней лектинсвязанных антигенов между женщинами здоровыми и с раком шейки матки, а также между пациентками с доброкачественными и злокачественными новообразованиями. Чувствительность и специфичность метода составили 93,6 и 87,8% соответственно при значении отсекающего уровня (cut-off level) 12,74 нг/мл. По указанным параметрам описанный метод превосходит методы с определением концентрации раково-эмбрионального антигена и антигена плоскоклеточной карциномы в сыворотке крови.

Важнейшими показателями достоверности методов диагностики злокачественных новообразований являются чувствительность, специфичность, а также доля положительных и отрицательных предсказаний. До настоящего времени при раке шейки матки (РШМ) использовалось определение в сыворотке крови концентрации таких маркеров как раковоэмбриональный антиген (РЭА) и антиген плоскоклеточной карциномы. Однако клинические исследования показали, что основными недостатками этих маркеров является либо их невысокая чувствительность при высокой специфичности, либо низкая специфичность при высокой чувствительности. Кроме того, эти методы не способны с достаточной степенью достоверности дифференцировать доброкачественные и злокачественные процессы в шейке матки.

Для определения лектинсвязанных форм РЭА/РЭА-подобных антигенов в вагинальном секрете использовали выделенный нами маннансвязывающий лектин дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus* и моноспецифические, поликлональные антитела к этому лектину [2]. Разработанный метод ранее был оценен как перспективный для дифференциации злокачественных и доброкачественных новообразований [1].

Целью данной работы являлся анализ диагностической чувствительности, специфичности и предсказательной ценности нового метода путем расширенного исследования лектинсвязанных антигенов в вагинальном секрете.

Материал и методы. Изучали влагалищный секрет 40 здоровых женщин, а также 40 пациенток с доброкачественными и 40 пациенток со злокачественными новообразованиями шейки матки (рак) в возрасте $46,4 \pm 0,6$ г. Диагноз РШМ был установлен клинически и верифицирован морфологически. Исследуемые образцы секрета были стандартизованы по весовой концентрации и хранились при -42°C . Обработка результатов исследования проводилась с использованием общепринятых в медицине и биологии методик с расчетом медианы, квадратичного отклонения и средней ошибки средней арифметической. Ценностные характеристики диагноза исследовались при помощи теоремы Баес с вычислением априорной вероятности заболевания, чувствительности и специфичности, предсказательной ценности положительного и отрицательного диагнозов.

Результаты исследования. В клиническом эксперименте были выявлены существенные различия в уровне связывании лектина дальневосточного трепанга с углеводными цепями РЭА, содержавшегося в вагинальном секрете. При этом концентрации лектинсвязанных форм РЭА/РЭА-подобных антигенов у здоровых женщин и у пациенток с доброкачественными изменениями были близки и в среднем составили $20,3 \pm 1,3$ и $19,7 \pm 1,6$ нг/мл соответственно, а их средний уровень в секрете женщин с РШМ составил $5,2 \pm 0,8$ нг/мл. Таким образом, статистически достоверные различия по этому параметру установлены между здоровыми и женщинами с РШМ, а также между пациентками с доброкачественными и злокачественными новообразованиями.

Для определения диагностической и прогностической информативности лектиноиммуноферментного метода проводили математическое моделирование: аппроксимацию данных для бесконечного числа значений. Согласно полученным результатам, при специфичности 93,6% чувствительность лектиноиммуноферментного метода определения лектинсвязанных

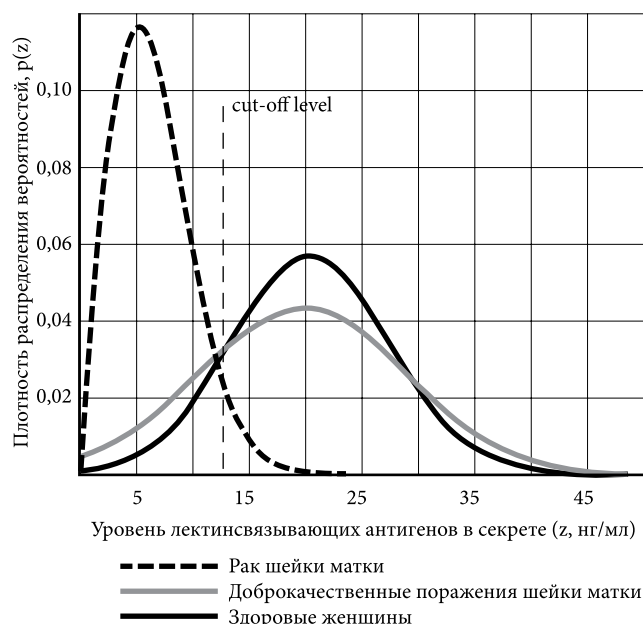


Рис. Эффективность дифференциации между группами наблюдения в зависимости от уровня лектин-связанных антигенов.

антигенов в вагинальном секрете у женщин с РШМ составила 87,8%. Данные получены по отношению к соответствующим контрольным группам (здоровые и женщины с доброкачественными заболеваниями) при выбранном нами значении отсекающего уровня (cut-off level): $z_{cut} = 12,74$ нг/мл (рис.). Предсказательная ценность положительного диагноза в нашем исследовании составила 87%, а предсказательная ценность отрицательного диагноза – 95,2%.

Обсуждение полученных данных. После статистической обработки данных было получено подтверждение сделанного ранее вывода о перспективности использования разработанного лектиноиммуноферментного метода диагностики РШМ в практической онкологии. К достоинствам метода можно отнести неинвазивность и независимость от возраста. По основным параметрам (чувствительность, специфичность) описанный метод превосходит известные способы определения РЭА и антигена плоскоклеточной карциномы в сыворотке крови. Так, диагностическая чувствительность определения последнего при плоскоклеточном РШМ составляет 60–87%, а специфичность 41–91%. Для уровня РЭА при высокой специфичности (98%) отмечают низкую чувствительность – 33% [3–6].

Таким образом, метод диагностики заболеваний шейки матки, основанный на определении концентрации уровня лектинсвязанных форм РЭА/РЭА-подобных антигенов в вагинальном секрете, позволяет:

- 1) выявлять злокачественные заболевания шейки матки на доклинических этапах обследования;
- 2) достоверно дифференцировать доброкачественные и злокачественные новообразования шейки матки;
- 3) формировать группы риска по РШМ;

- 4) осуществлять мониторинг состояния эпителия шейки матки у женщин, входящих в группы риска;
- 5) проводить оценку эффективности лечения и выявление рецидивов онкологических заболеваний шейки матки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 09-04-98535-р-Восток-а: «Изучение структуры и функций новой группы лектинов морских беспозвоночных и их взаимодействия с маркерами злокачественной трансформации»).

Литература

1. Булгаков А.А., Родионова О.М., Петрова И.Ю. и др. Применение лектин-иммуноферментного метода в диагностике рака шейки матки // Системный анализ и управление в биомедицинских исследованиях. 2006. Т. 5, № 4. С. 792–796.
2. Bulgakov A.A., Eliseikina M.G., Petrova I.Yu. et al. Molecular and biological characterization of a mannan-binding lectin from the holothurian *Apostichopus japonicus* // *Glycobiology*. 2007. Vol. 17, No. 12. P. 1284–1298.
3. Gloria B. Tumor antigens CA 19.9, CA 125, and CEA in carcinoma of the uterine cervix // *Gynecol. Oncology*. 1995. Vol. 57, No. 2. P. 205–211.
4. Gaarenstroom K.N., Kenter G.G., Bonfrer J.M.G. et al. Can initial serum Cyfra 21-1, SCC antigen, and TPA levels in squamous cell cervical cancer predict lymph node metastases or prognosis // *Gynecol. Oncol.* 2000. Vol. 77. P. 164–170.
5. Gadducci A., Tana R., Cosio S. et al. Serum tumor markers in the management of ovarian, endometrial and cervical cancer // *Critical Review in Oncology/Hematology*. 2008. Vol. 66, No. 1. P. 10–20.
6. Scambia G., Benedetti Panici P., Foti E. et al. Multiple tumour marker assays in advanced cervical cancer: relationship to chemotherapy response and clinical outcome // *Eur. J. of Cancer*. 1996. Vol. 32, No. 2. P. 259–263.

Поступила в редакцию 31.03.2010.

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC INFORMATIVITY OF NEW LECTIN IMMUNOENZYMOMETRIC METHOD FOR DIAGNOSING CERVICAL CANCER

A.A. Bulgakov¹, O.M. Rodionova², I.Yu. Petrova³, M.G. Eliseikina³, A.Yu. Rodionov⁴, V.I. Apanasevich⁵

¹ Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS (159, 100 Anniv. of Vladivostok Av. Vladivostok 690048 Russia), ² Out-Patient Clinic No. 8 (4 Vostretsova St. Vladivostok 690048 Russia), ³ Institute of Marine Biology, FEB RAS (17 Palchevskogo St. Vladivostok 690041 Russia), ⁴ Far Eastern Technical University (10 Pushkinskaya St. Vladivostok 690990 Russia), ⁵ Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russia)

Summary – Based upon 120 case follow-ups, the authors estimate efficiency of applying lectin immunoenzymometric method intended for differential diagnostics of benign and malignant neoplasms of uterine cervix, and analyze contents of lectin-related embryonic cancer and embryo-like cancer antigens in vaginal secretion. With this end in view, the authors use mannan-binding lectin of the Far-eastern sea cucumber *Apostichopus japonicus* to identify statistically reliable differences between the levels of lectin-binding antigens between healthy women and patients with cervical cancer, and between patients with benign and malignant neoplasms. The method sensitivity and specificity are 93.6 and 87.8%, respectively, given the cut-off level of 12.74 ng/ml. With all this in view, this method has more advantages compared to those associated with determining of concentration of embryonic cancer antigen and squamous cell carcinoma antigen in blood serum.

Key words: cervical cancer, lectin immunoenzymometric method, lectins, embryonic cancer antigen.

Pacific Medical Journal, 2011, No. 1, p. 96–97.