

ОНКОМАРКЕРЫ В КАЛЕ В ДИАГНОСТИКЕ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Е. И. Михайлова, С. И. Пиманов, Е. В. Воропаев

Кафедра внутренних болезней № 2 Гомельского государственного медицинского университета*; кафедра терапии № 2 ФПК и ПК Витебского государственного медицинского университета

Колоректальный рак — одна из центральных проблем современной медицины. Примерно каждый третий больной раком ободочной кишки выявляется на IV стадии заболевания, что предрешает судьбу пациента. Ранняя диагностика колоректального рака возможна только на его доклинической стадии. Поиск экономически целесообразного и неинвазивного метода диагностики, который позволил бы определить показания к проведению эндоскопического исследования, является актуальной проблемой современной медицины. Мы изучали диагностические возможности фекального калпротектина и различных способов определения скрытой крови в кале в диагностике колоректального рака, в том числе и при сочетанном применении. В результате исследования установлено, что тест на калпротектин и иммунохимический тест обладают более высокой чувствительностью в выявлении колоректального рака, чем гемокульт-тест ($p < 0,05$). Иммунохимический тест на скрытую кровь в кале по чувствительности превосходит тест на калпротектин в выявлении полипов и любой неоплазии толстой кишки ($p < 0,05$). Следовательно, несмотря на свою относительную дороговизну, иммунохимический тест на скрытую кровь в кале может быть рекомендован в качестве неинвазивного маркера в выявлении колоректального рака у лиц со средним риском развития, в то время как тест на фекальный калпротектин, являясь недорогим и легко воспроизводимым, может быть использован в качестве скринингового теста лишь у пациентов с высоким риском развития колоректального рака. Сочетанное определение скрытой крови и калпротектина в кале позволяет повысить чувствительность метода по отношению к колоректальному раку до 97,2%, специфичность до 93,3%, достигнув эффективности 95,6%.

Ключевые слова: колоректальный рак, калпротектин, иммунохимический тест

*246028 Республика Беларусь, Гомель, ул. Ланге, 5а.

Colorectal cancer (CRC) presents one of the central problems in modern medicine. In approximately every third patient, colon cancer is revealed at stage IV, which determines the patient's outcome. Early diagnosis is possible only at the pre-clinical stage. To find a cheap and non-invasive diagnostic method which would determine indications to endoscopy is an important task of modern medicine. The authors studied what benefits in CRC diagnostics were provided by fecal calprotectin test and different methods for detection of occult blood in feces as well as combinations of these. The study found that calprotectin test and immunochemical test were more sensitive than hemocult-test for CRC diagnostics ($p < 0.05$). Immunochemical occult blood test proved to be more sensitive for the detection of polyps or any kind of colon dysplasia ($p < 0.05$). Hence, despite its relatively high cost, immunochemical occult blood test may be recommended as a non-invasive colorectal cancer marker in individuals with moderate risk, while fecal calprotectin test, being cheap and easily repeatable, may be used for screening only in patients with a high risk of CRC development. Combined application of tests for occult blood and calprotectin in feces makes it possible to increase the sensitivity of the method up to 97.2%, its specificity up to 93.3%, and its effectiveness up to 95.6% in the detection of CRC.

Key words: colorectal cancer, markers

Колоректальный рак — одна из центральных проблем современной медицины, так как на протяжении последних 15 лет он стабильно занимает по частоте 3-е и по смертности 2-е место после рака легкого, а заболеваемость им составляет около 60 случаев на 100 000 населения [1]. «Золотым стандартом» диагностики колоректального рака в настоящее время является колоноскопия с забором биоптатов для последующего морфологического исследования. Колоноскопия является ключевым элементом государственных программ скрининговой диагностики колоректального рака, принятых в США и в ряде стран Западной Европы. Однако до сих пор широкое использование колоноскопии не всегда возможно вследствие инвазивности процедуры, сложности как ее проведения, так и подготовки больного [2]. Для массового профилактического обследования населения необходим экономически целесообразный, неинвазивный метод, который бы позволил заподозрить заболевание и указал на необходимость эндоскопического исследования. Таким методом в настоящий момент является тест на скрытую кровь в кале, основанный на гваяковой реакции. Модернизированный в 60-х годах прошлого столетия сначала Greegog, а несколько позже Veber, он известен в настоящее время под названием «гемокульт-тест». Гемокульт-тест стал составной частью большинства скрининговых программ по выявлению колоректального рака. Он позволяет снизить смертность от этого заболевания на 15—33%. Несмотря на то что чувствительность гемокульт-теста к колоректальному раку превышает 60%, при ранних его формах она невысока и не достигает даже 30% [3]. В то же время гемокульт-тест не в состоянии выявить до 59% аденом толстой кишки [2], обычно предшествующих развитию рака этой локализации. Это заставляет исследователей продолжать поиск новых простых и неинвазивных способов ранней диагностики колоректального рака, определяющих показания к проведению эндоскопического исследования.

В последние годы в литературе появились результаты пока немногочисленных исследований, в которых в качестве неинвазивного маркера органической патологии кишечника, в том числе и колоректального рака, используется фекальный калпротектин. Последний является кальцийсвязывающим протеином, содержащимся в большом количестве в цитоплазме нейтрофильных гранулоцитов, активированных макрофагов и в меньшей степени моноцитов. Однако, по мнению большинства исследователей, несмотря на то что чувствительность доступного с ценовой точки зрения кал-

протектина в диагностике колоректального рака и составляет более 60%, специфичность теста требует дополнительного проведения колоноскопии у 30% пациентов, использовавших фекальный калпротектин, по сравнению с 4—5% пациентов, обследованных с помощью гемокульт-теста [3].

Еще одной методикой, позволяющей проводить скрининговую диагностику колоректального рака, является иммунохимический тест на скрытую кровь в кале с утилизированными антителами к глобину человеческого гемоглобина. Биохимической основой данной пробы является иммунореакция с человеческим гемоглобином: гемагглютинация и поздние агглютининовые тесты. В отличие от гемокульт-теста иммунохимический тест не реагирует с нечеловеческим гемоглобином и пероксидазой, содержащейся в овощах и фруктах, что исключает зависимость от соблюдения предварительной диеты и повышает эффективность теста, согласно одному из исследований, с 53 до 66% [4].

Целью нашего исследования явилось изучение диагностических возможностей определения фекального калпротектина и различных способов выявления скрытой крови в кале в диагностике колоректального рака.

Материал и методы

Одобрение на проведение исследования было получено в этическом комитете Гомельской областной специализированной клинической больницы. Исследуемая группа состояла из 58 больных колоректальным раком (средний возраст $65,88 \pm 12,11$ года), 37 пациентов с полипами кишечника (средний возраст $62,16 \pm 2,17$ года), 57 больных с синдромом раздраженного кишечника (средний возраст $50,05 \pm 14,87$ года) и 26 здоровых добровольцев (средний возраст $59,68 \pm 18,28$ года).

Диагностика рака и полипов толстой кишки производилась с помощью колоноскопии со взятием биопсии. Использовались общепринятые эндоскопические визуальные признаки диагностики патологии толстой кишки [5]. Морфологическая верификация включала гистологическое исследование препаратов, полученных из биоптатов кишки и операционного материала [6].

Гистологическая классификация опухолей произведена в соответствии с рекомендациями ВОЗ (№ 15 ВОЗ, Женева, 1981): опухоли подразделены на высоко-, умеренно-, низкодифференцированные аденокарциномы и недифференцированные новообразования [7]. Выделение стадий колоректального рака осуществляли, основываясь на разработанной Международным противораковым союзом системе TNM: T (tumor) — первичная опухоль, N (nodulus) — региональные лимфатические пути, M (metastasis) — метастазы [1].

Среди больных колоректальным раком было 29 женщин и 29 мужчин. Опухоль локализовалась у 25 больных

в прямой кишке, у 19 — в левых отделах толстой кишки и поперечной ободочной кишки, у 12 — в правых отделах толстой кишки, и у 3 пациентов был обнаружен синхронный рак толстой кишки. При гистологическом исследовании у 54 больных была выявлена аденокарцинома толстой кишки различной степени дифференцировки (высокодифференцированная — у 8, умеренно дифференцированная — у 34, низкодифференцированная — у 12) и у 4 пациентов — недифференцированное новообразование. Распространенность опухоли была следующей: категорию T1 имели 3 больных, T2 — 6, T3 — 13 и T4 — 36 пациентов.

Всем больным с синдромом раздраженного кишечника диагноз был выставлен на основании Римских III критериев, а также клинически и эндоскопически определено отсутствие иной органической патологии.

Здоровые добровольцы, не имевшие симптомов заболевания кишечника и не подвергавшиеся абдоминальным хирургическим вмешательствам, составили группу отрицательного контроля.

Калпротектин определяли в образцах кала больных, взятых из одной дефекации, иммуноферментным анализом с использованием стандартных наборов фирмы «Nova Tec Immundiagnostica GmbH», Германия. Нормальными считались значения фекального калпротектина от 5 до 50 мкг/г.

Наличие гемоглобина в кале определяли с помощью гемокульт-теста, произведенного фирмой «gabOkkult», Германия и иммунохимического теста на скрытую кровь в кале наборами фирмы «Biotech Atlantic, Inc.», США. Гемокульт-тест проводили с пробами, взятыми из трех последовательных дефекаций спустя 3 дня после исключения из употребления пищевых продуктов и лекарственных средств, искажающих результаты исследования. Кал для постановки иммунохимических тестов, не требующих соблюдения специальной диеты и ограничения приема лекарственных средств, забирали из одной дефекации. Если невозможно было выполнить тест сразу после взятия образца, то последний хранился в течение 1 нед в плотно закрытом приемнике при температуре от 2 до 8°C.

При совместном использовании двух методов диагностики положительным результатом считали наличие позитивного результата теста, определяемого обоими или одним из применяемых методов. Отрицательный результат соответствовал наличию негативных результатов тестов, показанных одновременно как фекальным калпротектином, так и тестами на скрытую кровь в кале.

Статистическая обработка данных проведена с применением пакета прикладных программ Statistica 6 фирмы «StatSoft Inc.» (США). Использовались стандартные статистические методы, включающие вычисление медианы и доверительных интервалов (95% ДИ). Сопоставление двух независимых групп по количественному признаку производили с помощью теста Манна—Уитни. Для анализа различия частот значения бинарного признака в двух независимых выборках использовался двусторонний тест точного критерия Фишера. Для анализа точности диагностического метода использовались общепринятые диагностические характеристики [8]. Сравнение диагностических характеристик проводили с использованием критериев Макнемара. Статистически значимыми считали различия при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные нами результаты свидетельствуют, что тесты на скрытую кровь в кале оказались положительными у 44 больных колоректальным раком, у 19 пациентов с полипами кишечника, у 8

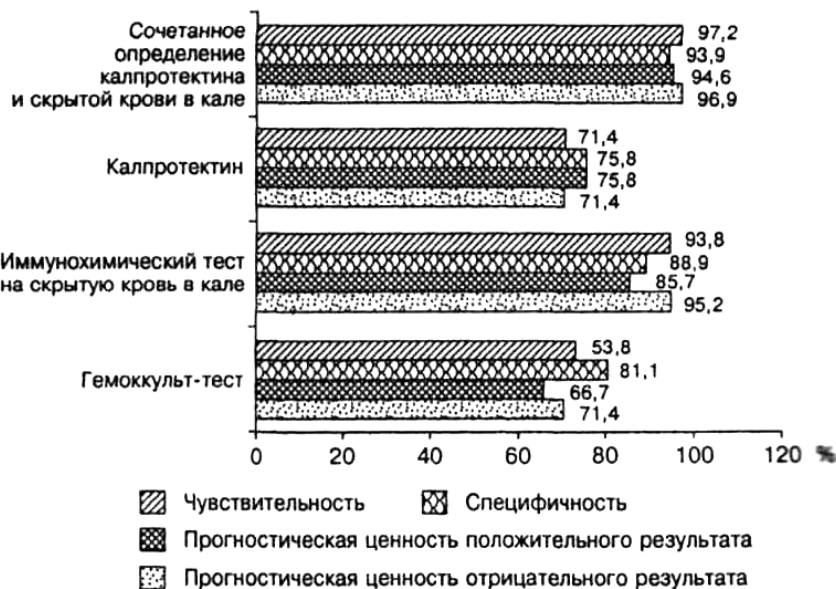


Рис. 1. Диагностическая точность (в %) фекальных маркеров в выявлении колоректального рака.

больных с синдромом раздраженного кишечника и у 4 здоровых добровольцев. Это составило соответственно 75,9, 51,4, 18,6, 12,5% от общего числа обследуемых в каждой из групп.

Гемокульт-тест был положительным у 14 из 26 больных колоректальным раком, у 7 из 19 пациентов с полипами кишечника, у 1 из 20 здоровых добровольцев и у 6 из 17 больных с синдромом раздраженного кишечника.

Иммунохимический тест показал скрытую кровь в кале у 30 из 32 больных колоректальным раком, у 12 из 17 пациентов с полипами кишечника, у 3 из 5 здоровых добровольцев и 2 из 40 больных с синдромом раздраженного кишечника.

Вычисление двустороннего варианта точного критерия Фишера показало, что положительная проба на скрытую кровь в кале достоверно чаще встречается у больных колоректальным раком по сравнению с пациентами, имеющими полипы толстой кишки, здоровыми добровольцами ($p < 0,05$) и больными с синдромом раздраженного кишечника ($p < 0,05$). При сравнении группы больных колоректальным раком с группой пациентов, не имевших органической патологии толстой кишки (синдром раздраженного кишечника и здоровые добровольцы), также обнаружены достоверные различия ($p < 0,05$).

Диагностические характеристики гемокульт-теста в выявлении колоректального рака представлены на рис. 1, полипов толстой кишки — на рис. 2, любой неоплазии — на рис. 3. Количество ложноположительных результатов, по нашим данным, составило 18,9%.

Полученные нами данные согласуются с результатами других исследований. Учитывая, что биохимической основой этого теста является индикация активности пероксидазы, что делает возможным обнаружение гемоглобина, миоглобина, гема, а также негемовых пероксидаз в слайдах-отпечатках кала большого, реакция приводит к большому числу (19—21%) ложноположительных ответов [9]. Для повышения специфичности методики обследуемые должны в течение трех дней перед проведением теста соблюдать специальную диету с ограничением продуктов, содержащих пероксидазу (мясо, сы-



Рис. 2. Диагностическая точность (в %) определения скрытой крови и калпротектина в кале при полипах толстой кишки.

рые овощи, например редис, турнепс, брокколи), а также избегать приема некоторых лекарственных средств (препараты железа, аскорбиновая кислота и др.), что делает применение подобных программ обременительным для пациентов. Проба имеет чувствительность на уровне 53–82%, что было показано на примере нескольких контролируемых исследований в ряде европейских стран [2]. При проведении подобной программы в Дании во время первичного скрининга был пропущен каждый второй случай рака ободочной кишки [10], в Великобритании — каждый третий [11], а по результатам небольшого исследования в Швеции — более трех случаев из четырех [12].

Диагностические характеристики иммунохимического теста в выявлении колоректального рака представлены на рис. 1, полипов толстой кишки — на рис. 2, любой неоплазии — на рис. 3. Количество ложноположительных результатов, по нашим данным, составило 11,1%.

Полученные нами результаты сопоставимы с данными других исследователей. Чувствительность иммунохимического теста, по данным различных авторов, весьма вариабельна и колеблется в пределах 26–95%, специфичность приближается к 90%. Биохимической основой данной пробы является иммунореакция с человеческим гемоглобином: гемагглютинация и поздние агглютининовые тесты, поэтому тест не реагирует с нечеловеческим гемоглобином и пероксидазой, содержащейся в овощах и фруктах, что исключает зависимость от соблюдения предварительной диеты. Количество ложноположительных результатов, по литературным данным, приближается к 5% [2].

Гемокульт-тест в нашем исследовании уступал иммунохимическому тесту на скрытую кровь в кале по чувствительности в выявлении колоректального рака, полипов и любой неоплазии толстой кишки ($p < 0,05$), в то время как его специфичность, имеющая такую же тенденцию к росту по отношению к той же патологии, не достигла различий, соответствующих статистической значимости ($p > 0,05$).

Таким образом, недостатки гваякового теста на скрытую кровь в кале многочисленны и включают

обременительное соблюдение диеты, длительный и неудобный забор кала, невысокую чувствительностью и издержки, связанные со специфичностью теста. К основным достоинствами иммунохимического теста на скрытую кровь в кале следует отнести более высокую эффективность и отсутствие зависимости пациента от соблюдения предварительной диеты, к основным недостаткам — более высокую стоимость исследования.

Медиана значений фекального калпротектина для колоректального рака в нашем исследовании составила 107,12 мкг/г (95% ДИ: 82,16–262,10), для полипов кишечника — 31,45 мкг/г (95% ДИ: 12,36–1249,99) и синдрома раздраженного кишечника — 26,33 мкг/г (95% ДИ: 26,53–58,32). Различия между исследованными группами были статистически значимы ($p < 0,05$).

Полученные нами данные согласуются с результатами исследования О. Kronborg [13], которые показали достоверные различия между уровнем фекального калпротектина у больных колоректальным раком, пациентами с аденомами различной степени дифференцировки и с отсутствием любой неоплазии ($p < 0,01$). Однако уровни фекального калпротектина у пациентов с аденомами толстой кишки и отсутствием неоплазии в исследовании О. Kronborg [13] достоверно не различались ($p > 0,05$). Медиана значений фекального калпротектина для колоректального рака была несколько ниже нашей и равнялась 66,1 мкг/г (95% ДИ: 15,6–1245,0), для низкодифференцированной аденомы — 21,0 мкг/г (95% ДИ: 15,6–772,0), для высокодифференцированной аденомы — 24,0 (95% ДИ: 15,6–616,8) и при отсутствии любой неоплазии — 21,5 мкг/г (95% ДИ: 15,6–2092,7) [13].

По нашим данным, тест на фекальный калпротектин оказался положительным у 25 и ложноотрицательным у 10 пациентов с колоректальным раком, у 12 и 19 больных с полипами кишечника соответственно. Среди пациентов с синдромом раздраженного кишечника отрицательная проба обнаружилась у 25, а ложноположительная — у 8 больных.

Диагностические характеристики фекального калпротектина в выявлении колоректального рака представлены на рис. 1, полипов толстой кишки — на рис. 2.

Полученную в нашем исследовании чувствительность теста на фекальный калпротектин в выявлении колоректального рака можно считать достаточно высокой по сравнению с результатами исследований, полученными В. Johne (64%) [14] и несколько позже G. Hoff (67%) [2]. Необходимо учитывать, что исследовался образец кала из одной дефекации, тогда как В. Johne [14] при исследовании пациентов с аденомами толстой кишки обнаружил, что средний уровень фекального калпротектина увеличивается при взятии образцов кала из двух последовательных дефекаций, приводя к повышению чувствительности до 98% для симптоматического и 82% для бессимптомного рака толстой кишки.

В то же время Р. Limburg [15] определил для фекального калпротектина отрицательную прогно-

стическую ценность по отношению к колоректальному раку на очень высоком уровне (99%), что значительно превышает полученные нами данные (71,4%), а О. Kristinsson [16] в мультицентровом исследовании пациентов с отягощенным анамнезом по колоректальному раку обнаружил чувствительность фекального калпротектина в отношении колоректального рака и аденоматозных полипов толстой кишки 80 и 70% соответственно (по нашим данным, 71,4 и 38,7%).

Мы изучили диагностические возможности фекального калпротектина в выявлении любой неоплазии толстой кишки. Диагностические характеристики маркера представлены нами на рис. 3. В исследовании G. Hoff [3] чувствительность фекального калпротектина по отношению к любой неоплазии толстой кишки значительно ниже и отмечается на уровне 27% со специфичностью теста, близкой к полученной нами и равной 76% [2].

Фекальный калпротектин в выявлении рака, полипов и любой неоплазии толстой кишки по чувствительности превосходит гемоккульт-тест ($p < 0,05$), а по специфичности уступает ему, хотя различия в этом случае и не достигают статистически значимых ($p > 0,05$).

Иммунохимический тест на скрытую кровь в кале имеет более высокую специфичность по отношению к раку, полипам и любой неоплазии толстой кишки, чем калпротектин ($p < 0,05$), а по чувствительности превосходит калпротектин лишь в отношении полипов и любой неоплазии толстой кишки ($p < 0,05$), в то время как такая же тенденция в отношении колоректального рака статистической значимости не достигает ($p > 0,05$).

В исследовании J. Tibble [17] тест на фекальный калпротектин также оказался более чувствительным и менее специфичным, чем гемоккульт-тест (чувствительность Наемоскулт II 40%, специфичность 90%).

Сочетанное определение фекального калпротектина и скрытой крови в кале было проведено нами у 36 больных колоректальным раком, у 31 пациента с полипами кишечника и 33 больных с синдромом раздраженного кишечника. В результате исследования мы получили 35 положительных проб и 1 ложноотрицательную при колоректальном раке, 21 положительную и 10 ложноотрицательных при полипах кишечника и 31 отрицательную и 2 ложноположительные пробы при синдроме раздраженного кишечника. Диагностические характеристики теста в выявлении колоректального рака представлены на рис. 1, полипов толстой кишки — на рис. 2, любой неоплазии — на рис. 3.

Сочетанное определение скрытой крови в кале повышает чувствительность метода по отношению к полипам и любой неоплазии толстой кишки по сравнению с иммунохимическим тестом и определением калпротектина ($p < 0,05$), хотя в отношении колоректального рака такая же тенденция не достигает статистической значимости ($p > 0,05$). Специфичность сочетанного теста в выявлении любой патологии превосходит специфичность обоих тестов также без статистически значимых различий ($p > 0,05$).

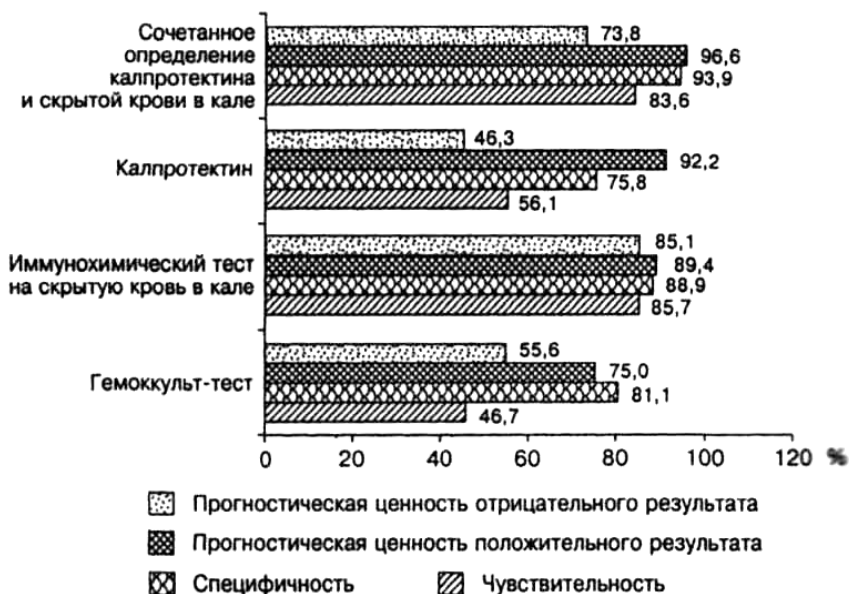


Рис. 3. Диагностическая точность фекальных маркеров в неинвазивной диагностике любой неоплазии толстой кишки.

Таким образом, недостатки гемоккульт-теста, включающие обременительное соблюдение диеты, длительный и неудобный забор кала, невысокую чувствительность и издержки, связанные со специфичностью теста, несмотря на дешевизну, ограничивают его применение в неинвазивной диагностике колоректального рака. Определение калпротектина и иммунохимический тест обладают более высокой чувствительностью по отношению к колоректальному раку, чем гемоккульт-тест ($p < 0,05$). Иммунохимический тест на скрытую кровь в кале по чувствительности превосходит тест на калпротектин в выявлении полипов и любой неоплазии толстой кишки ($p < 0,05$). Следовательно, несмотря на свою относительную дороговизну, иммунохимический тест на скрытую кровь в кале может быть рекомендован в качестве неинвазивного маркера колоректального рака у лиц со средним риском развития, в то время как тест на фекальный калпротектин, являясь недорогим и легко воспроизводимым, может быть использован в качестве скринингового теста лишь у пациентов с высоким риском развития колоректального рака. Сочетанное определение скрытой крови и калпротектина в кале позволяет повысить чувствительность метода по отношению к колоректальному раку до 97,2%, специфичность — до 93,3%, достигнув эффективности 95,6%.

ЛИТЕРАТУРА

- Ивашкин В. Т., Рапопорт С. И., Комаров Ф. И. (ред.) Краткое руководство по гастроэнтерологии. М.: М-Вести; 2001.
- Михайлова Е. И. Скрининг колоректального рака (литературный обзор). Пробл. здоровья и экол. 2005; 2: 79—82.
- Hoff G. Testing for faecal calprotectin (PhiCal) in the Norwegian Colorectal Cancer Prevention trial on flexible sigmoidoscopy screening: comparison with an immunochemical test for occult blood (FlexSure OBT). Gut 2004; 53: 1329—1333.
- Воробей А. Н. Восстановительные и реконструктивные операции у больных с колостомами. Здоровоохранение (Москва) 2000; 4: 2—7.
- Руководство по клинической эндоскопии / Савельев В. С.,

- Буянов В. М., Лукомский Г. И. и др. М.; 1985.
6. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека / Краевский Н. А., Смольяников А. В., Саркисов Д. С. и др. М.; 1993.
 7. Кратенок В. Е., Короткевич Е. А. и др. Атлас TNM: Иллюстрированное руководство по TNM. pTNM-классификация злокачественных опухолей. Минск; 1998.
 8. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. М., 2006.
 9. St. John D. S. B., Young G. P. Stool occult blood testing for colorectal cancer: a critical analysis. *Pract. Gastroenterol.* 1992; 8: 19—23.
 10. Kronborg O. Repeated screening for colorectal cancer with fecal occult blood test. *Scand. J. Gastroenterol.* 1989; 24: 599—606.
 11. Hardcastle J. D. Randomized, controlled trial of faecal occult blood screening for colorectal cancer: results for the first 107,349 subjects. *Lancet* 1989; 1: 1160—1164.
 12. Kewenter J. Screening and rescreening for colorectal cancer: a controlled trial of fecal occult blood testing in 27,700 subjects. *Cancer (Philad.)* 1998; 62: 645—651.
 13. Kronborg O. Faecal calprotectin levels in a high risk population for colorectal neoplasia. *Gut* 2000; 46: 795—800.
 14. Johne B. New fecal calprotectin test for colorectal neoplasia. The Clinical results and comparison with preceding method. *Scand. J. Gastroenterol.* 2001; 36: 291—296.
 15. Limburg P. J. The level faecal calprotectin predict colorectal inflammation amongst patient with chronic diarrhoea ed for colonoscopy. *J. Gastroenterol.* 2000; 95: 2831—2837.
 16. Kristinsson O. Screening first relative patient acted for colorectal cancer: estimation fecal calprotectin vs hemocult II. *Digestion* 2001; 64: 104—110.
 17. Tibble J. Faecal calprotectin and faecal mysterious blood is tested in diagnosis colorectal carcinoma and adenoma. *Gut* 2001; 49: 402—408.
-
-