

© Коллектив авторов, 2015 г.
УДК [616.34-003.235-003.215]:612.017.1

**С. В. Васильев, Е. В. Смирнова,
Д. Е. Попов, А. В. Семенов**

ПРЕИМУЩЕСТВА ИММУНОХИМИЧЕСКОГО ТЕСТА ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ СКРЫТОЙ КРОВИ В КАЛЕ

Кафедра хирургических болезней с курсом колопроктологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова; Городской научно-практический центр колопроктологии; Отделение онкологии Городской больницы № 9, Санкт-Петербург

ВВЕДЕНИЕ

За последние годы в России отмечается рост заболеваемости злокачественными новообразованиями [1]. Колоректальный рак является широко распространенным заболеванием. По данным Санкт-Петербургского популяционного ракового регистра, заболеваемость колоректальным раком в нашем городе также увеличивается с каждым годом. В 2010 г. в Санкт-Петербурге впервые установлен диагноз колоректального рака 2724 пациентам, а в 2013 г. — уже 2981 больному [2].

Все это доказывает необходимость поиска чувствительных и специфичных тестов для выявления таких ранних симптомов развития опухолей толстой кишки, как скрытая кровь в кале.

Целью исследования является сравнение FIT экспресс-теста нового поколения Biohit Colon View (CV) (*Biohit, Oyj*, Хельсинки, Финляндия) и лидирующего на рынке FOB теста на основе гваяковой пробы Hemoccult SENSА (HS) (*Beckman Coulter, Фуллертон, США*) для обнаружения скрытой крови, находящейся в образцах кала при наличии патологии ЖКТ, в особенности при наличии новообразований толстой кишки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Представленное клиническое исследование было проведено в Санкт-Петербургском научно-практическом центре колопроктологии на базе Городской больницы № 9, отделение онкологии. В исследовании участвовали 300 пациентов старше 45 лет, имеющих различные показания для выполнения колоноскопии и направленных в амбулаторное отделение эндоскопии. Согласившиеся принять участие в исследовании пациенты подписывали письменное согласие.

Далее участникам были выданы специальные наборы для забора образцов двух тестов, включающие контейнеры и подробные инструкции по правильной подготовке к исследованию.

Все образцы отправлялись в лабораторию на исследования, после чего пациентов приглашали в клинику для проведения колоноскопии.

Отбор образцов для CV- и HS-испытаний. Сбор образцов проводился пациентами в домашних условиях. Подробные инструкции, где было рекомендовано проводить сбор образцов в течение трех дней, выдавались каждому пациенту. Далее пациенты приносили образцы в клинику.

Обработка образцов и интерпретация результатов. Из-за принципиальных различий в выполнении тестов CV и HS-обработка исследуемых образцов в лаборатории также имеет различия.

В случае HS-теста интерпретация результата осуществляется только по качественному или визуальному определению гемоглобина (Hb) в образцах. Результат может быть или положительным, или отрицательным. Аналитическая чувствительность данного теста при 0,3 мг Hb в 1 г образца.

Экспресс-тест CV служит для количественного обнаружения двух компонентов: гемоглобина и гемоглобин-гаптоглобинового (Hb/Hp) комплекса в кале. Результат теста может иметь четыре варианта: идентифицированы оба компонента, не обнаружен ни один из компонентов, обнаружен только один из компонентов. Результаты были интерпретированы как путем визуальной оценки, так и автоматическим преобразованием интенсивности окраски, используя считывающие устройства от Trilyzer Lateral flow (*opTricon GmbH*, Берлин, Германия).

Аналитическая чувствительность к Hb — 15 нг/мл, а для Hb/Hp-комплекса — 4 нг/мл.

Колоноскопия и выполнение биопсии. Всем 300 пациентам были выполнены колоноскопия и гистологическое исследование биоптата, что необходимо для оценки исследуемых лабораторных тестов. Если во время колоноскопии не было выявлено никакой патологии и не возникало необходимости в выполнении биопсии, то такие пациенты переводились в контрольную группу.

Статистический анализ. Для статистического анализа были использованы три вида программного обеспечения: «SPSS 22.0.0.1» для Windows (*IBM, Нью-Йорк, США*), «STATA / SE 13.1» (*STATA Corp., штат Техас, США*) и «MedCalc 14.12.0» (программное обеспечение *MedCalc*, Остенде, Бельгия). Показатели эффективности (чувствительность (SE), специфичность (SP), положительное прогностическое значение (PPV), отрицательное прогностическое значение (NPV) и их 95 %-й доверительный интервал) для обоих тестов рассчитывались по отдельности. Также вычислялась область ROC (Receiver Operator Characteristic — операционная характеристика приемника) и определяемая AUC (Area Under Curve). Значения оценивались с помощью сравнительного теста ROC (*MedCalc*) с 95 %-м доверительным интервалом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования в группу вошли 313 пациентов, которые выполнили сбор образцов кала для CV- и HS-тестов. Из них 13 отказались от прохождения колоноскопии и были исключены из окончательного анализа результатов исследования ввиду того, что не было ни эндоскопического, ни гистологического подтверждения.

Таким образом, были проанализированы результаты обследований 300 пациентов (187 женщин, 113 мужчин).

Средний возраст пациентов составил 61,8 года (диапазон — от 45 до 84 лет). Также в данной группе отмечено очевидное преобладание женщин (66,7 %) (табл. 1).

У 85 человек (из 300 обследованных) при колоноскопии и гистологическом исследовании слизистая оболочка толстой кишки была оценена как нормальная.

У 29 пациентов были выявлены неопухолевые причины появления скрытой крови в кале.

Две основные группы составили пациенты, у которых выявлены аденокарциномы (N = 94) и аденомы (N = 91).

Самый распространенный вариант локализации — единичное новообразование в сигмовидной кишке (N = 65), затем — наличие сразу нескольких новообразований в различных отделах толстой кишки (N = 64). В проксимальном отделе было выявлено 20 новообразований.

При сравнении результатов выявления различных видов ново-

образований для обоих тестов во всех случаях можно наблюдать явное превосходство в точности результатов CV-теста по сравнению с HS (табл. 2). При наличии у пациента только аденомы или сочетания аденомы и аденокарциномы разница в результатах теста является весьма значимой ($p = 0,0001$), однако при наличии только аденокарцином тесты показали одинаковый результат. Во всех случаях CV-тест оказался более чем на 60 % чувствительнее, в то время как HS — более специфичным (на 15–20 %), однако этого, в конечном итоге, оказалось недостаточным для того, чтобы компенсировать слабую чувствительность.

Скрининг КРР обеспечивает первичную профилактику, предоставляя возможность обнаружить предраковые новообразования, а выполнение малоинвазивных вмешательств позволяет избежать возможной малигнизации. Скрининговая програм-

Таблица 1

Основные характеристики пациентов с заболеваниями толстой кишки		
Пациент	Абсолютное число (n = 300)	%
Возраст, лет	61,8	диапазон от 45–84
Пол:		
женский	187	62,3
мужской	113	37,7
Категории изменений слизистой:		
слизистая без органической патологии	114	38,0
аденома	91	30,3
аденокарцинома	95	31,7
Локализация поражения:		
восходящий отдел ободочной кишки	14	6,5
поперечная ободочная кишка	6	2,8
нисходящий отдел ободочной кишки	8	3,7
сигмовидная кишка	65	30,1
прямая кишка	59	27,3
многочисленные локализации	64	29,6

Таблица 2

Показатели результативности Hemocult SENSE и теста Colon View для различных конечных точек

TEST/конечная точка	Чувствительность (95 % ДИ)	Специфичность (95 % ДИ)	Положительная прогностическая ценность (95 % ДИ)	Отрицательная прогностическая ценность (95 % ДИ)	AUC (95 % ДИ)
Hemocult SENSE*					
Аденома	30,8 % (21,5–41,3)	96,5 % (91,3–99,0)	87,5 % (71,0–96,5)	63,6 % (55,9–70,8)	0,636 (0,586–0,687)
Аденома + аденокарцинома	58,6 % (51,2–65,8)	96,5 % (91,3–99,0)	96,5 % (91,2–99,0)	58,8 % (51,4–66,0)	0,775 (0,736–0,815)
Аденокарцинома	85,3 % (76,5–91,7)	96,5 % (91,3–99,0)	95,3 % (88,4–98,7)	88,7 % (81,8–93,7)	0,909 (0,869–0,948)
ColonView (визуализация)**					
Аденома	94,5 % (87,6–98,2)	85,1 % (77,2–91,1)	83,5 % (74,9–90,1)	95,1 % (88,9–98,4)	0,898 (0,858–0,938)
Аденома + аденокарцинома	97,3 % (93,9–99,1)	85,1 % (77,2–91,1)	91,4 % (86,62–94,9)	95,1 % (88,9–98,4)	0,912 (0,877–0,947)
Аденокарцинома	100 % (96,2–100)	85,1 % (77,2–91,1)	84,8 % (76,8–90,9)	100 % (96,3–100)	0,925 (0,893–0,958)
ColonView (ридер–автоматическая интерпретация)***					
Аденома	94,7 % (85,4–98,9)	79,8 % (70,8–87,0)	72 % (60,4–81,8)	96,5 % (90,1–99,3)	0,873 (0,824–0,921)
Аденома + аденокарцинома	97,2 % (92,2–99,4)	79,8 % (70,8–87,0)	83,5 % (75,8–89,5)	96,5 % (90,1–99,3)	0,885 (0,844–0,927)
Аденокарцинома	100 % (93,2–100)	79,8 % (70,8–87,0)	71,2 % (59,4–81,2)	100% (95,7–100)	0,899 (0,860–0,938)

Примечание: * – три образца стула, любой из них оказался положительным; ** – три образца стула от пациента, любой из них оказался положительным для гемоглобина или гемоглобина/гаптоглобина; *** – три образца от пациента, любой из них оказался положительным для гемоглобина или гемоглобина/гаптоглобина.

ма осуществляет также и вторичную профилактику, благодаря которой появляется возможность диагностировать и лечить ранние формы рака, что, безусловно, влияет на прогноз заболевания [3, 6, 7].

Однако возможность скрининга КРР с использованием FOB-тестов на основе гваяковой пробы сомнительна [4, 5].

В этом отношении новые FIT-тесты становятся более перспективными. FIT-тесты доказали свое превосходство над гваяковыми тестами в выявлении новообразования толстой кишки любого типа [3, 4].

В данном исследовании было проведено тщательное сравнение нового экспресс-теста Colon View и ведущего теста — FOB (Hemoccult SENSE).

В табл. 2 продемонстрировано, что во всех исследуемых случаях CV-тест оказался более чувствительным, а HS — более специфичным. Однако небольшое превосходство в специфичности HS не компенсирует отсутствие необходимого уровня чувствительности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В скрининге КРР предпочтительно использование более чувствительного теста, так как сам факт наличия крови, независимо от причины, уже является отклонением от нормы.

Иммунохимический тест показал свое превосходство по сравнению с тестом, основанным на гваяковой смоле.

Очевидным преимуществом иммунохимического теста Colon View является возможность определения не только качественной, но и количественной характеристики наличия скрытой крови в образцах стула.

При наличии положительных ответов теста на скрытую кровь в образцах стула необходимо обязательное проведение эндоскопического исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е. М., Давыдов М. И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. — М.: РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, 2014. — С. 145–146.
2. Орлов Г. М., Мовчан К. Н. и др. Основные медико-статистические показатели оказания онкологической помощи жителям Санкт-Петербурга в 2009–2013 годах. — СПб.: МИАЦ, 2014. — 124 с.
3. Allison J. E., Tekawa I. S., Ransom L. J. et al. Comparison of fecal occult-blood tests for colorectal-cancer screening // *N. Engl. J. Med.* — 1996. — № 334. — P. 155–159.
4. Ransohoff D. F., Lang C. A. Clinical guideline. P. I: Suggested technique for fecal occult blood testing and interpretation in colorectal cancer screening // *Ann. Intern. Med.* — 1997. — № 126. — P. 808–810.
5. Ransohoff D. F., Lang C. A. Clinical Guideline. P. II: Screening for colorectal cancer with the fecal occult blood test: A Background Paper // *Ann. Intern. Med.* — 1997. — № 126. — P. 811–822.

6. Whitlock E. P., Lin J. S., Liles E. et al. Screening for colorectal cancer: An updated systematic review for the US Preventive Services Task Force // *Ann. Intern. Med.* — 2008. — № 149. — P. 638–658.

7. Whitlock E. P., Lin J., Liles E. et al. Screening for colorectal cancer: An updated systematic review // *Evidence Synthesis.* — № 65. — P. 1. AHRQ Publication № 08-05124-EF-1. — Rockville, Maryland, Agency for Healthcare Research and Quality, 2008.

РЕЗЮМЕ

С. В. Васильев, Е. В. Смирнова, Д. Е. Попов, А. В. Семенов

Преимущества иммунохимического теста при выявлении скрытой крови в кале

Цель исследования — сравнение нового поколения иммунохимического теста с традиционным гваяковым тестом определения скрытой крови в кале. Группе из 300 пациентов, направленных на колоноскопию, выполняли два различных теста для определения скрытой крови в кале: Colon View экспресс-тест (CV) (иммунохимический тест определения гемоглобина (Hb) и гемоглобин/гаптоглобинового (Hb/Hp) комплекса) и Hemoccult SENSE (HS) (гваяковый тест определения гемоглобина). Выполнялось 3 забора образцов и последующей фиброколоноскопией с выполнением биопсии. Определялись показатели чувствительности (SE), специфичности (SP), положительная прогностическая ценность (PPV), отрицательная прогностическая ценность (NPV) и площадь под кривой (AUC) для обоих тестов для трех патологий (аденома А, аденома + аденокарцинома (А+АС) и аденокарцинома (АС)). При колоноскопии и биопсии у 114 человек не было выявлено изменений слизистой (38%), у 91 — А (30,3%) и у 95 пациентов — АС (31,7%). Для группы А+АС для HS определена SE 58,3% и SP 94,5% (AUC — 0,771), в то время как для CV SE 97,2% и SP 97,2% (AUC — 0,916) (p=0,0001). Для группы с А разница между HS и CV оказалась еще более значимой AUC=0,637 и AUC=0,898 соответственно (p=0,0001). Для группы АС для HS определена SE 85,3% и SP 96,5% (AUC — 0,909), для CV SE — 100,0% и SP 85,1% (AUC — 0,925) (p=0,0001). Тест Colon View может быть представлен как экспресс-тест в программе скрининга колоректального рака.

Ключевые слова: колоректальные неоплазии, скрининг, иммунохимический тест, гваяковый тест.

SUMMARY

S. V. Vasiliev, E. V. Smirnova, D. E. Popov, V. A. Semenov

The advantages of the immunochemical test in detecting hidden blood in the stool

The aim of the study: to compare new generation immunochemical test (FIT) with traditional guaiac test (FOB) in detection of fecal occult blood. A cohort of 300 patients referred for colonoscopy was examined by two different tests for FOB: quick test (CV) (FIT test for haemoglobin (Hb) and haemoglobin/haptoglobin (Hb/Hp) complex) and (guaiac test for Hb). Three fecal samples were tested and all subjects were examined by diagnostic colonoscopy with biopsy verification. The performance indicators (sensitivity (SE), specificity (SP), positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) and area under the curve (AUC)) were calculated for both tests using three endpoints (adenoma (A), adenoma/carcinoma (A/AC) and carcinoma (AC)). Colonoscopy (and

biopsies) disclosed normal results in 114 (38.0 %) subjects, A in 91 cases (30.3 %) and AC in 95 (31.7 %) patients. For the combined A + AC endpoint, the HS test had SE of 58.3 % and SP of 96.5 % (AUC = 0.774), while the CV test had 97.2 % SE and 85.8 % SP (AUC = 0.916) ($p = 0.0001$). For the A endpoint, the difference between HS and CV was even more significant, AUC = 0.637 and AUC = 0.898, respectively ($p = 0.0001$). For

the AC endpoint, the HS test had SE of 85.3 % and SP of 96.5 % (AUC = 0.909), while the CV test had 100.0 % SE and 85.1 % SP (AUC = 0.925) ($p = 0.0001$). The ColonView test can be represented as a rapid test in the screening programme for colorectal cancer.

Keywords: colorectal neoplasia screening, immunochemical test, the guaiac test.

© Коллектив авторов, 2015 г.
УДК [577.23:616-005]:575.17

**Е. С. Алексеевская, А. А. Жлоба,
Т. Ф. Субботина, Н. Д. Гаврилюк,
Т. А. Дружкова, Е. В. Жидулева,
О. Б. Иртюга, О. М. Моисеева**

БЕЛКОВЫЕ МАРКЕРЫ ОБНОВЛЕНИЯ И ГИБЕЛИ МИТОХОНДРИЙ У ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ КРОВО- ОБРАЩЕНИЯ

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова; Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова, Санкт-Петербург

ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным представлениям, митохондриальная дисфункция (МД), с одной стороны, нарастает в ходе хронического патологического процесса, вероятно, обуславливая возрастассоциированное нарушение функций органов и организма в целом [2, 9, 16], с другой стороны, многочисленные данные указывают на связь повреждения митохондрий и развития синдрома мультиорганной дисфункции, зачастую приводящего к летальному исходу, на фоне острой патологии или травмы [11, 17]. Обсуждение возможности новых терапевтических подходов, направленных не только на коррекцию повреждения митохондрий, но и на стимуляцию их биогенеза [11], а также появление энерго-тропных и митохондриально-адресованных [16] лекарственных препаратов стимулируют развитие диагностических методик оценки МД. Существующие в настоящее время биохимические тесты (лактат, пируват, спектр аминокислот, органические кислоты) для оценки функционирования митохондрий не являются достаточно специфичными маркерами собственно МД. Белковые маркеры, особенно с небольшим периодом полужизни, присутствующие в системном кровотоке и непосредственно связанные с функционированием митохонд-

рий, могут быть более близки к понятию «идеального биомаркера» в плане специфичности в сравнении с метаболическими показателями.

Уровень цитохрома С (CytC) в системном кровотоке обсуждается как показатель повреждения митохондрий и гибели клеток [14]. Новые данные об экстрануклеарной локализации PGC1 α (peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma coactivator-1alpha; 1альфа-коактиватор гамма-рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом) — ключевого фактора регуляции энергетического обмена и функции митохондрий — позволяют предположить наличие транспортных систем для данного белка и в цитоплазматической мембране, а также возможность его экзоцитоза [3, 5]. Изменение экспрессии гена PGC1 α обнаружено при ряде заболеваний, в том числе нейродегенеративных, сахарном диабете и сердечной недостаточности, а также в ходе старения [4, 7, 8].

Данная работа посвящена изучению содержания CytC и PGC1 α в системном кровотоке у пациентов с нарушением кровообращения на фоне патологии выходного тракта левого желудочка и их связи с известными метаболическими маркерами МД.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты. Были исследованы образцы плазмы крови от 110 пациентов (71 мужчина и 39 женщин) с распределением по возрасту 61,0 (55,0 — 64,0) года. 94 пациента имели патологию выходного тракта левого желудочка: аневризму восходящего отдела аорты ($n = 69$) и аортальный стеноз ($n = 25$) (рис. 1). В качестве подгруппы без патологии выходного тракта левого желудочка были обследованы пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС) и другими распространенными сердечно-сосудистыми факторами риска: артериальная гипертензия, дислипидемия, ожирение, сахарный диабет ($n = 16$). Функция почек у всех пациентов была сохранной. Результаты рутинных лабораторных тестов и клиническая характеристика пациентов получены ретроспективно.

В качестве группы сравнения исследованы образцы от 34 здоровых лиц (6 мужчин и 28 женщин) в возрасте от 18 до 25 лет. Критериями включения