

- ти и её связь с Чернобыльской аварией. В кн.: Национальный конгресс по болезням органов дыхания, 7-й: Сб. рез. М.; 1997. 325, № 1208.
19. Романова Т.В. Клинико-морфологические и иммунологические особенности воспалительного процесса органов дыхания у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС в отдаленные сроки: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Н. Новгород; 1998.
 20. Татарский А.Р., Марачева А.В., Кирюхин А.В. и др. Особенности клинического течения заболеваний органов дыхания у лиц, участвующих в ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС. Пульмонология 1993; 4: 20–23.
 21. Трахтенберг А.Х. Онкопульмонология. М.: Практика; 2000.
 22. Харченко В.П., Кузьмин И.В., Галил-Оглы Г.А. Онкоморфология легких. М.: Медицина; 1994.
 23. Чучалин А.Г. Белая книга. Пульмонология. М.: Гэотар Медицина; 2000.
 24. Чучалин А.Г., Грובהва О.М., Черников В.П. Радионуклид в ткани легких у ликвидатора последствий аварии на Чернобыльской АЭС. Пульмонология 1993; 4: 27–31.
 25. Шойхет Я.Н., Лазарев А.Ф. Рак легкого в Алтайском крае и некоторые вопросы взаимосвязи его с испытаниями ядерных зарядов в атмосфере на Семипалатинском полигоне. Там же 85–89.
 26. Hung J., Kishimoto Y., Sugio K. et al. Allele-specific chromosome 3p deletions occur at an early stage in the pathogenesis of lung carcinoma. JAMA. 1995; 273 (7): 558–563.
 27. Mapp C.E. Occupational lung disorders. (European respiratory monograph. Vol. 4. Monograph 11). Sheffield; 1999.
 28. Sekido Y., Fong K., Minna J. Progress in understanding the molecular pathogenesis of human lung cancer. Biochim. Biophys. Acta 1998; 1378: 21–59.
 29. Ponticello A., Barra E., Giani U. et al. P53 immunohistochemistry can identify bronchial dysplastic lesions proceeding to lung cancer: a prospective study. Eur. Respir. J. 2000; 15 (3): 547–552.
 30. Wagner G.R. Screening and medical surveillance of workers exposed to mineral dust. Geneva: World Health Organization; 1996.
 31. Weinberger S.E. Lung cancer: etiologic and pathogenic aspects. In: Principles of pulmonary medicine. 3-rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1998. 247–256.

Поступила 18.01.01.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК 616.24–006.6–092

И.Е.Бахлаев, Е.К.Олейник, А.И.Агеенко, В.М.Олейник

ОЦЕНКА МАРКЕРОВ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

Петрозаводский государственный университет

EVALUATION OF TUMOR GROWTH MARKERS IN LUNG CANCER PATIENTS

I.E.Bakhlav, E.K.Oleinik, A.I.Ageenko, V.M.Oleinik

Summary

A comparative analysis of tumor growth markers in lung cancer patients was performed during diagnostic work-up, treatment and the following observation of the patients. It was determined that the carcinoembryonic antigen (CEA) was not suitable for the initial screening and lung cancer detection because of its low specificity. *TURTEST* was reasonable to be used as a diagnostic and screening test. This method is easy to perform and could be applied in an outpatient department. *TURTEST* and skin response to autologous modified lymphocytes were effective in differentiated diagnosis of lung cancer and non-tumor lung diseases. The application of two tests simultaneously combined with other diagnostic techniques allowed to detect lung cancer in 96.6% of the cases. Each of these three markers can be used for postoperative monitoring of lung cancer patients and prognosing of the disease.

Резюме

Проведен сравнительный анализ использования маркеров опухолевого роста у больных раком легкого на этапах диагностики, лечения и последующего наблюдения за пациентами. Установлено, что раково-эмбриональный антиген (РЭА) в силу низкой специфичности непригоден для первичного скрининга и диагностики рака легкого. Диагностический тест на опухолевый рост (*TURTEST*) целесообразно использовать при проведении скрининга. Метод технически прост, может осуществляться в условиях поликлиники. *TURTEST* и кожная реакция с аутологичными модифицированными лимфоцитами эффективны в дифференциальной диагностике рака и неопухолевых заболеваний легких. Одновременное определение двух тестов в комбинации с другими методами обследования позволяет в 96,6% наблюдений установить правильный диагноз рака легкого. Каждый из трех маркеров может применяться для послеоперационного мониторинга больных раком легкого и определения прогноза заболевания.

Рак легкого (РЛ) стал одной из самых распространенных форм злокачественных новообразований [4]. В России число заболевших РЛ в 1994 г. составило 69 100 человек, причем число вновь выявленных больных за 1980–1994 гг. увеличилось на 46%. При сохранении этой тенденции в 2000 г. ожидается повышение числа новых заболеваний до 80 000. Абсолютное число умерших от РЛ увеличилось в России за 15-летний период на 57% и достигло в 1994 г. 65 900. Незначительные различия в среднем возрасте заболевших и умерших являются следствием неблагоприятного прогноза при опухолях этой локализации. Пятилетняя выживаемость всех больных РЛ не превышает 10–15%, а при мелкоклеточном раке этот показатель составляет лишь 1–3% [9].

Значительный рост РЛ, высокий процент запущенных форм, малоудовлетворительные результаты лечения определяют необходимость поиска новых методов диагностики злокачественных опухолей. В последние годы большое значение придается возможностям использования иммунологических исследований, онкотестов в комплексной диагностике и мониторинге РЛ [2,6,8]. Использование маркеров опухолевого роста целесообразно в проведении скрининга с целью выявления опухолей легких [10]. Дальнейшая разработка и внедрение в клиническую практику новых опухолевых маркеров на основе моноклональных антител может открыть в ближайшее время широкие перспективы в диагностике и мониторинге онкологических заболеваний [7,11–13].

Целью настоящей работы явилось изучение эффективности применения маркеров опухолевого роста в скрининге, диагностике и послеоперационном мониторинге РЛ.

В качестве маркеров использованы раково-эмбриональный антиген (РЭА), кожная реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) с аутологичными модифицированными лимфоцитами и диагностический тест на опухолевый рост (*TURTEST*).

Концентрацию РЭА в сыворотке крови пациентов определяли методом радиоиммунологического анализа с использованием набора РИО — РЭА-125 I-M (ИБОХ, Минск).

Кожная реакция ГЗТ используется в клинической практике для обнаружения клеточнозависимой иммунологической реактивности. Кожный тест ставили путем внутрикожного введения на предплечье 0,1 мл суспензии аутологичных лимфоцитов и с целью контроля — 0,1 мл изотонического раствора натрия хлорида [1]. Лимфоциты выделяли методом центрифугирования в градиенте фиколл-верографин с плотностью 1,077. После подсчета часть клеток инкубировали с фитогемагглютинином (ФГА; «*Serva*», *Germany*), а часть использовали как контроль, в котором вместо ФГА добавляли среду. Кожную реакцию ГЗТ определяли путем измерения поперечного по отношению к оси предплечья диаметра гиперемии через 24, 48 и 72

часа. Выраженность реакции оценивали по балльной системе:

- менее 5 мм — реакция отрицательная — 0 баллов;
- 5–10 мм — слабopоложительная (+) — 1 балл;
- 10–15 мм — слабopыраженная (++) — 2 балла;
- 15–20 мм — положительная (+++) — 3 балла;
- 20 мм и более — резкоположительная (++++) — 4 балла.

Осложнений при проведении кожных проб не было.

Новый универсальный диагностический тест на опухолевый рост [3], действующим началом которого является антиидиотипическая, антиэмбриональная сыворотка, используется в модифицированном тесте гемагглютинации эритроцитов пациентов (иммуномодификация СОЭ). Для проведения *TURTEST* 1 мл венозной крови пациента смешивали со 100 мкл 5% раствора цитрата натрия в фосфатном буферном растворе (*PBS*) 0,02 М, рН 7,2. Из полученного объема брали 3 порции по 70 мкл каждая. В 1-ю и 2-ю порцию крови вносили по 20 мкл контрольной сыворотки, в 3-ю — 20 мкл рабочей сыворотки. Полученные смеси забирали в капилляры СОЭ до отметки 50 мм. Спустя 1 час после инкубации капилляров (в вертикальном положении при 37°C) рассчитывали коэффициент в условных единицах: разницу между средним арифметическим СОЭ контрольных проб (1-я и 2-я пробы) и СОЭ рабочей пробы (3-я проба) в мм умножали на большую из двух величин и делили на 50. Коэффициент, превышающий по величине 1,5, свидетельствует о наличии опухолевого процесса.

Диагностическую значимость маркеров опухолевого роста оценивали по их чувствительности и специфичности [5]. Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с расчетом уровня достоверности по Стьюденту.

Нами проведен поэтапный скрининг для выявления онкологических заболеваний среди 13 837 лиц взрослого населения в возрасте от 30 до 75 лет. Мужчин было 6354, женщин — 7483. По результатам автоматизированного анамнестического скрининга в группу высокого онкологического риска отобрано 1746 человек. На втором этапе, наряду с традиционными методами, проводили иммунологическое тестирование (табл.1). Положительные результаты тестов на опухолевый рост отмечены у 675 человек, из которых у 63 выявлены злокачественные опухоли различных локализаций (желудок — 20, легкие — 16, почки — 7, гениталии — 6, толстая кишка — 6, молочная железа — 4, другие органы — 4). Из 63 пациентов у 19 имело место бессимптомное течение болезни. Среди 16 больных с установленным диагнозом РЛ, I и II стадия заболевания определена в 11 случаях.

После проведения всех этапов скрининга около 38% пациентов были включены в группу повышенного онкологического риска. В нее были включены лица старше 30 лет, связанные с производственными вредностями, с наследственным фактором, куриль-

щики; страдающие хроническими, фоновыми и предраковыми заболеваниями. В группу риска включены также пациенты с неясным диагнозом при повышении температуры тела, с ускорением СОЭ, а также лица, имеющие положительные результаты онкотеста. Следует отметить, что при последующем мониторинге у одного больного с хроническим бронхитом и у двух больных с язвой желудка (*TURTEST* 2,56, 2,31 и 2,54) через 11, 10 и 8 месяцев диагностированы РЛ и два рака желудка, соответственно.

Диагностическая эффективность маркеров опухолевого роста исследована у 384 больных с различными заболеваниями легких, поступивших в хирургическое отделение с подозрением на РЛ. В результате комплексного обследования у 296 больных установлен РЛ, у 19 — доброкачественная опухоль легкого (ДОЛ) и у 69 — неопухолевые заболевания легких (НЗЛ). Возраст пациентов от 30 до 69 лет. Контрольную группу составили 40 практически здоровых доноров (мужчин — 28, женщин — 12) в возрасте от 30 до 55 лет.

Среди больных РЛ мужчин было 272, женщин — 24. Периферический рак диагностирован у 36, 5%, центральный — у 63, 5%. С I стадией РЛ было 65, со II — 78, с III — 113 и с IV — 40 больных (согласно *TNM* классификации злокачественных опухолей, 1997 г.). Основной гистологической структурой опухоли был плоскоклеточный рак (60,1%), аденокарцинома диагностирована в 21, 7% и мелкоклеточный рак — в 18,2% наблюдений.

Подавляющее число больных ДОЛ составили мужчины — 17, женщины — 2. В группе пациентов НЗЛ мужчин было 59 и 10 женщин. Из 69 НЗЛ у 27 диагностирована острая пневмония, у 8 — хроническая, у 25 — хронический бронхит, у 3 — туберкулема, у 2 — актиномикоз, у 2 — инородное тело бронха и по 1 случаю — саркоидоз Бека и гранулематоз Вегенера.

Концентрация РЭА превышала принятый за норму уровень (5 нг/мл) у 155 больных РЛ, чувствительность определения антигена составила 52,4%. При определении РЭА в сыворотке крови уровень выше верхней границы нормы наблюдался у 3 больных ДОЛ, у 24 — с НЗЛ и у 4 здоровых лиц. Полученные данные свидетельствуют о недостаточной эффективности этого метода для диагностических целей.

Результаты исследований кожной реакции ГЗТ с аутологичными модифицированными лимфоцитами показали, что частота положительного теста у больных ДОЛ составляет 5,3%, у больных НЗЛ — 11,6% и у здоровых лиц — 5%. У больных РЛ I — III стадий положительная кожная реакция отмечена в 85,5% наблюдений, при IV стадии заболевания — в 75%. Чувствительность метода кожной реакции ГЗТ с аутологичными лимфоцитами, обработанными ФГА, у больных РЛ составила 84,8%.

Кроме того, величина кожной пробы существенно различалась в зависимости от характера заболева-

Таблица 1

Эффективность иммунологического скрининга на злокачественные новообразования

Метод исследования	Число лиц с положительными тестами	Число выявленных онкологических заболеваний
РЭА	58	3
Кожный тест	248	13
<i>TURTEST</i>	369	47
Всего:	675	63

ния. Так, у больных РЛ подавляющее число положительных реакций более 10 мм в диаметре было у 216 (73%) человек. У больных ДОЛ лишь у одного диаметр эритемы составил 8 мм. Слабоположительная реакция (1 балл) отмечена у 5 и слабовыраженная (2 балла) у 3 больных НЗЛ. В контрольной группе лишь в 2 наблюдениях диаметр гиперемии превышал 5 мм.

Анализ результатов диагностического теста на опухолевый рост показал, что его величина, превышающая 1,5 усл.ед., была у 54 (83,1%) больных с I стадией, 68 (87,2%) — II, 101 (89,4%) — III и 27 (67,5%) — IV стадией РЛ. Частота положительного теста в контрольной группе отмечена в 5%, ДОЛ — в 10,5%, НЗЛ — в 15,9% наблюдений. Чувствительность метода у больных РЛ составила 83,8%, специфичность — 88,3%.

У больных РЛ результаты онкотеста колебались от 0,18 до 9,6. В среднем величина теста составила $2,37 \pm 0,63$, что достоверно выше, чем у больных НЗЛ ($0,83 \pm 0,21$), ДОЛ ($0,64 \pm 0,11$) и у здоровых лиц ($0,59 \pm 0,18$), $p < 0,05$. В группе пациентов НЗЛ *TURTEST* был в пределах от 0,12 до 2,57. В 11 наблюдениях его значение превышало 1,5. При дальнейшем наблюдении у 1 пациента с хроническим бронхитом диагностирован РЛ. У 2 из 19 больных ДОЛ величина онкотеста составляла 1,65 и 1,86. Все пациенты

Таблица 2

Динамика численности больных РЛ с положительными результатами тестов до и после операции

Характер операции	Число больных	Тест	До операции	После операции (мес)		
				1	3	6
Радикальная	132	a	68	64	62	57
		b	114	9	7	9
		c	112	93	39	12
Нерадикальная	21	a	11	11	11	11
		b	18	18	16	16
		c	17	16	15	14

Примечание: a — РЭА, b — кожный тест, c — *TURTEST*.

этой группы оперированы, диагноз доброкачественной опухоли верифицирован морфологически.

Применение маркеров опухолевого роста при проведении комплексного обследования больных с подозрением на РЛ позволило установить правильный диагноз в 96,6% наблюдений.

У 153 больных РЛ показатели иммунологического тестирования изучены в ранние и отдаленные сроки послеоперационного периода (табл.2). Из них радикально оперированы 132 человека и у 21 произведены пробные торакотомии.

Установлено, что не наступало нормализации уровня РЭА у больных РЛ как в группе радикально оперированных больных, так и у больных с пробными торакотомиями. Понижение содержания антигена до уровня контроля отмечено лишь у 11 пациентов после радикальной операции.

В группе радикально оперированных больных (132) на 14-е сутки кожная реакция ГЗТ оставалась положительной в 60,6%, а на 30-е сутки — лишь в 9 (6,8%) наблюдениях. После пробной операции она оставалась положительной у 16 из 18 больных.

Проведение иммунологического мониторинга с помощью *TURTEST* показало, что в группе нерадикально оперированных больных снижение онкотеста до уровня нормы отмечено лишь в 3 случаях. Среди радикально оперированных пациентов через 6 месяцев после операции тест оставался положительным в 12 (9,1%) наблюдениях. Из этих больных в 3 случаях отмечен рецидив и в 6 — прогрессирование заболевания в виде отдаленных метастазов. В сроки от 6 до 24 месяцев после радикальной операции выявлено еще 30 случаев рецидива или прогрессирования заболевания. *TURTEST* у них вновь становился положительным в 22 (73,3%) наблюдениях. В группе больных с безрецидивным течением показатели онкотеста оставались отрицательными.

Повышенное содержание РЭА по сравнению с контролем отмечено как в группе больных с рецидивом, так и при отсутствии рецидива заболевания. Увеличение уровня РЭА на 50% и выше по сравнению с исходным уровнем является неблагоприятным прогностическим признаком.

В случае рецидива или прогрессирования заболевания кожная реакция ГЗТ вновь становилась положительной в 85% наблюдений, причем этот тест чаще всего констатировался за 3–4 месяца до клинико-рентгенологических проявлений рецидива заболевания.

Из 39 больных с рецидивом или прогрессированием РЛ у 6 удалось выполнить повторную операцию и у 26 — проводилась лучевая терапия.

Таким образом, маркеры опухолевого роста можно использовать в скрининговых программах по раннему выявлению злокачественных опухолей легких и при формировании групп повышенного онкологического риска. Из рассмотренных методов преимущество имеет *TURTEST* в силу его простоты и доступности, быстроты ответа, высокой чувствительности и специфичности. Онкотест может использоваться в амбулаторных условиях, при профосмотрах. Проведение иммунологического мониторинга у оперированных больных позволяет адекватно оценить радикальность выполненной операции, прогнозировать дальнейшее течение заболевания и обеспечивает своевременную диагностику рецидива опухоли с целью адекватного лечения.

Работа поддержана Российским Фондом фундаментальных исследований (грант 98-04-03521).

ЛИТЕРАТУРА

1. Агеев А.И., Ерхов В.С., Бахлаев И.Е. и др. Кожная реакция гиперчувствительности замедленного типа с аутологичными модифицированными лимфоцитами крови больных раком легкого. Эксперим. онкол. 1994; 4–6: 367–370.
2. Бахлаев И.Е., Олейник Е.К., Агеев А.И. и др. Комплексная диагностика первичного рака легкого с использованием иммунологических исследований. Клини. мед. 1997; 8: 45–48.
3. Бахлаев И.Е., Агеев А.И., Ерхов В.С., Олейник Е.К. *TURTEST* в диагностике опухолевых заболеваний легких. Пульмонология 1998; 3: 48–50.
4. Двойрин В.В., Трапезников Н.Н. Статистика рака легкого в России. Вестн. Онколог. науч. центра РАМН 1996; 2: 3–12.
5. Меньшиков В.В., Кадышева О.Г., Делекторская Л.Н., Пилменова Л.М. Методика диагностической оценки клинических лабораторных исследований. Лаб. дело 1988; 6: 67–70.
6. Мороз Г.С., Дрыжак В.И., Дыкан И.Н. и др. Опухолевые маркеры — диагностический и прогностический тест. Вопр. онкол. 1991; 3: 289–293.
7. Романова Р.Ю., Гергерт В.Я., Филиппов В.П. и др. Использование моноклональных антител для иммунодиагностики рака легких. Пробл. туб. 1997; 5: 44–48.
8. Diez V., Gomez A., Hernando F. et al. Serum CEA, CA 125, and SCC antigens and tumor recurrence in resectable non-small cell lung cancer. Int. J. Biol. Markers 1995; 10 (1): 5–10.
9. Eckersberger F. Bronchialkarzinom. Wien. Med. Wschr. 1994; 144 (22–23): 545–547.
10. Lamerz R. Tumormarker. MTA 1993; 8 (10): 1029–1030.
11. Michael J., McGee C. Screening for lung cancer. Semin. Surg. Oncol. 1989; 5 (3): 179–185.
12. Pandha H.S., Waxman J. Tumour markers. Quart. J. Med. 1995; 38 (4): 233–241.
13. Suresh M.R. Classification of tumor markers. Anticancer Res. 1996; 16 (4b): 2273–2278.

Поступила 29.08.2000.