

<https://doi.org/10.56598/2957-6377-2023-1-6-4-13>

УДК: 616.3; 616-006

МРНТИ 76.29.34; 76.29.49

Оригинальная

Современный иммунохимический метод ранней диагностики воспалительных заболеваний кишечника и колоректального рака

Кулкаева Г.У.¹, Мукажанов А.К.², Керимбекова Г.Р.³, Суюнова А.Б.⁴¹ Председатель Правления, Национальный научный онкологический центр, Астана, Казахстан.

E-mail: gulnara1412@mail.ru

² Заместитель Председателя Правления по медицинской деятельности, Национальный научный онкологический центр, Астана, Казахстан. E-mail: aktukazhanov@mail.ru³ Заведующий клинико-диагностической лаборатории, Национальный научный онкологический центр, Астана, Казахстан. E-mail: zhan-1803@mail.ru⁴ Специалист клинико-диагностической лаборатории, Национальный научный онкологический центр, Астана, Казахстан. E-mail: ayagozz@mail.ru

Резюме

Неспецифичность клинических проявлений заболеваний кишечника делает крайне сложной своевременную постановку диагноза на нозологическом уровне. Абдоминальная боль, нарушение двигательной активности кишечника, изменение консистенции стула, метеоризм, диарея наблюдаются при большом спектре заболеваний кишечника как органической, так и функциональной природы. Напротив, ряд предраковых заболеваний, в частности развитие аденом в кишечнике протекает, как правило, бессимптомно. Наличие указанных симптомов является показанием для комплексного обследования пациента с применением методов лабораторной и инструментальной диагностики.

Нами впервые в Казахстане проведено лабораторное исследование по оценке результатов уникального количественного иммунохимического метода на определение содержания гемоглобина, трансферрина и кальпротектина в мужских и женских образцах стула.

Цель исследования: изучить результаты иммунохимического анализа образца стула у добровольных жителей Республики Казахстан на предмет выявления воспалительных заболеваний кишечника и ранней диагностики колоректального рака.

Методы. В рамках реализации пилотного проекта в условиях Национального научного онкологического центра проведен отбор биоматериала (образцы стула) у добровольных жителей с дальнейшим исследованием с использованием иммунохимического метода. Всего у 787 человек обследован фекальный биоматериал на предмет определения содержания гемоглобина, трансферрина и кальпротектина. Одновременное количественное определение проводили с помощью автоматического дискретного анализатора NS-Prime - уникального контейнера для сбора образцов и специально разработанных реагентов с содержанием коллоидного золота (производство Японии).

Результаты. В результате проведенного нами исследования выявлено 390 человек с патологиями изменениями. Из них 63 (16,15%) человека с повышенным содержанием гемоглобина в фекальном биоматериале. У 23 человек выявлен трансферрин, из них 17 женщин и 5 мужчин. Всего у 12 добровольных участвующих выявлено одномоментное содержание гемоглобина/трансферрина/кальпротектина. Результаты трансферрина варьировали в диапазоне 62-361 нг/мл. Превышение нормы составило в 7,2 раза, что соответствует 5,9%. Доля кальпротектина, встречающаяся выше 350 мкг/г составила 9,4% от общего количества сдавших биоматериал лиц (18% положительных случаев), тогда как зафиксированных положительных результатов в диапазоне от 100 до 350 мкг/г наблюдалось у 40,15% лиц от общего количества зарегистрированных в испытании и 81,03% из положительных с повышенным показателем кальпротектина. Доля лиц, у которых зарегистрированы результаты в разрезе нормы составило 0,5%.

Выводы. Таким образом, в рамках нашего пилотного проекта выявлено 49,5% бессимптомных случаев воспаления кишечника, а также скрытой крови в верхних и нижних отделах кишечника, что свидетельствует ранней диагностике колоректального рака. На сегодняшний день гемоглобин, трансферрин и кальпротектин, определяемые количественным иммунохимическим методом с высокой чувствительностью являются биоиндикаторами ранней диагностики, а также оценки эффективности лечения воспалительных заболеваний кишечника и колоректального рака.

Мы считаем, что учитывая выявленную концентрацию и частоту встречаемости изучаемых нами показателей в рамках настоящего исследования, есть необходимость ввести программу скрининга воспалительных заболеваний кишечника и колоректального рака в стране с использованием иммунохимического метода исследования стула. Необходимо разработать методику исследования кала иммунохимическим методом с указанием нормы для каждой группы населения и внести данные в соответствующий реестр.

Ключевые слова: иммунохимический анализ, кальпротектин, трансферрин, гемоглобин, колоректальный рак, воспаление кишечника.

Corresponding author: Suyunova Ayagoz Bakytzhanovna, Specialist of clinical and diagnostic laboratory, National Scientific Oncology Center, Astana, Kazakhstan
Postal code: Z05K4F3
Address: Kazakhstan, Astana, Yesil district, Kerey Zhanibek khandar, 3
Phone: +77011356111
E-mail: ayagozz@mail.ru

Oncology.kz 2023; 1 (6): 4-13

Received: 04-02-2023

Accepted: 12-03-2023



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Введение

По данным официальной статистики за 2020 год рак ободочной и прямой кишки суммарно занимают третье место (10%) в мире среди вновь выявленных злокачественных новообразований (ЗНО) и второе место по количеству летальных исходов (9,4%), уступая лишь смертности от рака легкого [1]. В России в 2020 году рак ободочной и прямой кишки заняли 5-е и 6-е место в структуре заболеваемости ЗНО мужского населения, и 4-е и 7-е место – среди женского. За последние 10 лет отмечается устойчивый рост абсолютного числа впервые установленных диагнозов ЗНО ободочной кишки (на 6873 случая), рака прямой кишки, ректосигмоидного отдела и ануса (на 2845 случаев). Среднегодовой темп прироста заболеваемости населения России ЗНО ободочной кишки в 2010–2020 гг. составил 2,62%, рака прямой кишки, ректосигмоидного соединения и ануса – 1,62% [2,3]. Средний возраст больных с впервые в жизни установленным диагнозом колоректального рака (КРР) составляет 67–69 лет [2; 3]. Благодаря активному внедрению и совершенствованию систем скрининга удельный вес ЗНО ободочной кишки, выявляемых на I–II стадии, вырос за последние десять лет с 39,6% до 49%. У четверти пациентов (23–27%) КРР выявляется на IV стадии [2; 3].

Наиболее эффективным методом выявления опухолевых новообразований толстой кишки, обладающим высокой чувствительностью и специфичностью, является колоноскопия [4–7]. Но, к сожалению, инвазивность метода, доставляющая физический и психологический дискомфорт пациенту, показывает достаточно низкую приверженность населения к данному методу скрининга [4]. Кроме того, не у всех пациентов удается провести данное обследование полностью, в 5–10% случаев исследование прерывается из-за болевого синдрома, спазма кишки, стенозирующих образований [8,9]. Несмотря на большую эффективность колоноскопии в снижении смертности и заболеваемости КРР, ее высокая стоимость, требования к персоналу и оборудованию не позволяют достичь высокого скринингового охвата [4]. Исследование кала на скрытую кровь (КСК) является первым этапом скрининга КРР. При положительном тесте должна проводиться колоноскопия для подтверждения диагноза. Стратегия тестирования КСК основана на том, что уже на ранних стадиях опухоль может кровоточить, и небольшие следы крови в стуле обнаруживаются до появления клинических симптомов заболевания. Положительный тест КСК может быть не только при КРР, но также при кровоточащих полипах, воспалительных заболеваниях кишки, геморрое. И хотя тестирование КСК предназначено для раннего выявления КРР, в ряде случаев выявление и удаление полипов при колоноскопии при положительном тесте КСК позволяет предотвратить развитие КРР [10].

Неспецифичность клинических проявлений заболеваний кишечника делает крайне сложной своевременную постановку диагноза на нозологическом уровне. Абдоминальная боль, нарушение двигательной активности кишечника, изменение консистенции стула, метеоризм, диарея наблюдаются при большом спектре заболеваний кишечника как органической, так и функциональной природы. Напротив, ряд предраковых заболеваний, в

частности развитие аденом в кишечнике, протекает, как правило, бессимптомно. Четкий алгоритм диагностического поиска при наличии неспецифичной клинической симптоматики, своевременная диагностика предраковых заболеваний кишечника у формально «здоровых» лиц позволят сократить время на этапе обследования пациента. Основные симптомы, позволяющие врачу уже при первом контакте с пациентом заподозрить наличие органической патологии кишечника: любое изменение характера стула у лиц старше 40 лет; примесь крови в кале; слабость, утомляемость, потеря массы тела, лихорадка; хроническая анемия; боли; сохранение симптомов в ночные часы; наличие пальпируемой опухоли в брюшной полости [11]. Наличие указанных симптомов является показанием для комплексного обследования пациента, с применением современных методов лабораторной и инструментальной диагностики, включая колоноскопию.

В последние годы для дифференциальной диагностики органических заболеваний кишечника, протекающих с воспалительной инфильтрацией, от функциональных заболеваний стали использовать ряд высокочувствительных лабораторных тестов — определение специфических белков нейтрофилов в кале (лактоферрин, эластазаполимер-фонуклеарных лейкоцитов, кальпротектин) [12].

Кальпротектин — белок активной фазы, также называется MRP 8/14 или S100A8/A9. Это основной белок цитозоля, с молекулярной массой 36 кДа, связывающий кальций и цинк, продуцируемый полиморфноядерными нейтрофилами, моноцитами и плоским эпителием (кроме эпителия кожи) [13, 14]. После связывания с кальцием становится устойчивым к расщеплению под действием лейкоцитарных и микробных ферментов. Конкурируя с различными ферментами за ограниченное количество цинка, кальпротектин способен ингибировать многие цинкзависимые ферменты [14, 15], что приводит к эрадикации микроорганизмов, а также гибели в культуре клеток человека [15]. Высокий уровень кальпротекина надежно отражает активность и распространенность воспаления в слизистой оболочке кишечника, а также является предиктором потенциального обострения у больных язвенным колитом и болезнью Крона. Кальпротектин высоко стабилен в кале в течение нескольких дней. Чувствительность теста составляет 100%, специфичность – 97%.

В различных исследованиях было показано, что концентрация фекального кальпротекина (ФКП) хорошо коррелирует с эндоскопическими и гистологическими показателями воспалительного процесса в слизистой оболочке кишечника. Учитывая достаточную доказательную базу, тест на фекальный кальпротектин с 2010 года включен в перечень биохимических маркеров, которые могут использоваться для выявления воспаления в стенке кишечника [16, 17]. Чувствительность теста — 100%, специфичность — 97%. Положительная прогностическая ценность для эндоскопически активных форм болезни — 90%.

Выявление гемоглобина человека в кале не является лучшим способом диагностики рака желудка или заболеваний верхнего отдела кишечника, поскольку гемоглобин разрушается по мере прохождения по кишечнику.

Трансферрин более стабилен, чем гемоглобин, поэтому выявление трансферрина в кале может быть альтернативой для диагностики заболеваний верхнего отдела ЖКТ.

Метод имеет высокую диагностическую ценность у пациентов с микроскопическими колитами, когда при наличии органического заболевания у пациента отсутствуют какие-либо эндоскопические признаки поражения кишечника [18].

Преимуществами метода являются неинвазивность (метод снижает количество болезненных исследований), простота выполнения теста (метод ИХА) и забора материала (возможность

хранения), быстрота получения результата, низкая стоимость.

Таким образом, применение современного иммунохимического метода на определение содержания кальпротектина, гемоглобина и трансферрина возможно в качестве вспомогательного метода для диагностики и оценки прогноза течения ВЗК, КСК, КРР и других заболеваний желудочно-кишечного тракта. Из-за высокой заболеваемости колоректальным раком и отсутствия скрининговых программ в нашей стране своевременная ранняя диагностика предраковых заболеваний кишечника является актуальной проблемой.

Цель исследования: изучить результаты иммунохимического анализа образца стула у добровольных жителей Республики Казахстан на предмет выявления воспалительных заболеваний кишечника и для ранней диагностики колоректального рака.

Материалы и методы

В рамках пилотного проекта в условиях Национального научного онкологического центра (ННОЦ) впервые в 2022 году проводилось научное иммунохимическое исследование японским методом на анализаторе NS-Prime имеющий самый высокий в настоящее время уровень точности 96% у пациентов с раком и 88% у пациентов с предраковым состоянием. Анализ дает прогноз вероятности, стадии и локализации колоректального рака и воспалительных заболеваний кишечника.

Описание участвующих. В данном исследовании участвовали 787 человек, которые являлись добровольными жителями Республики Казахстан от 26 лет до 86 лет (средний возраст – 40 лет). Критерии включения: лица старше 18 лет, добровольное согласие на участие. Критерии исключения: Возраст младше 18 лет.

Материалом исследования служили образцы стула (каловая масса человека). Биоматериал проанализирован на определение содержания фекального кальпротектина, гемоглобина и трансферрина.

Методы исследования. Для анализа полученных данных мы распределили по полу и возрасту, учитывая нормируемые значения, проводимых у конкретной целевой группы. Обследуемым лицам было выдано направление согласно содержанию журнала регистрации КРР, которые указаны в таблице 1, а также данные принятых контейнеров с биоматериалом занесены в электронный журнал регистрации КРР клинко-диагностической лаборатории ННОЦ.

Полученные результаты внесены в бланк исследования, сравнение с нормативными величинами вели с установленными значениями в интернет ресурсе. При положительном анализе направляли рекомендательное смс-направление на проведение колоноскопии для установления диагноза.

Анализатор клинической химии применяется для иммунологического количественного *in vitro* определения гемоглобина и трансферрина в кале человека иммунохимическим методом HTSA Plus (одновременное количественное определение фекальных гемоглобина и трансферрина).

По результатам теста мы могли оценивать вероятность, стадию и локализацию рака кишечника [19-20].

Уникальный автоматический комплекс нового поколения для ранней диагностики рака кишечника (1-й и 2-й стадии), состоящий из полностью автоматического анализатора NS-Prime, уникального контейнера для сбора образцов и специально разработанных реагентов с содержанием коллоидного золота. Система измерения оптической плотности с использованием двух длин волн, оснащенная функцией контроля «прозоны» во время выполнения исследования. Производительность метода составляет до 300 тестов/ч (12с/шаг). Время измерения Hb на 7 мин с начала реакции (на 8 мин. начала распределения образца), Tf 4,6 мин начало реакции (на 5,6 мин. начало распределения образца), время начало реакции кальпротектина 7,2 мин. (начало распределения образца на 7,5 мин.). Время реакции составляет 12 с/тест, (± 5 с). Используемые длины волн основная $\lambda 1 = 540$ нм., дополнительная $\lambda 2 = 660$ нм. Длины волн используемые для проверки наличия образца $\lambda 1 = 540$ нм., дополнительная $\lambda 2 = 630$ нм. Источник света – три светодиода. Детектор – три фотодиода. Одномоментная постановка анализа на 220 образцов.

Взятие и распределение образца проходит автоматическим прокалыванием контейнера с образцом, многоцветная система взятия образца с датчиком объема имеет функцию автоматического разбавления в 10, 20, 100, 200 раз. Распределяемый объем реагента R1 (разбавителя образца) составляет от 10 до 55 мкл. и R2 от 40 до 60 мкл. Температура реакционного стола во время сухого нагрева блока – точность нагрева $43 \pm 0,5^\circ\text{C}$, температура для установки реагентов с помощью охладителя Пельтье $4-10^\circ\text{C}$. Длина оптического пути трансмиссионной фотометрии составляет 5 мм. В аналитической системе применена функция штрихкодирования.

Этические аспекты. Данное исследование одобрено Локальной комиссией по биоэтике ННОЦ, Протокол №12 от 27 октября 2022 года. У всех участвующих было получено информированное согласие.

Статистические методы. Достоверность результатов обусловлена значительным объемом экспериментального материала, полученного с использованием современных, высокоинформативных методов исследования с применением программ Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0.

В качестве основных характеристик описательной статистики применяли медиану (Me), нижний 25-й (L) и верхний 75-й (H) квантили. Оценку

статистической значимости различий проводили с использованием непараметрических критериев: Манна-Уитни (для двух независимых выборок), применимого для любых распределений и для которого в качестве нулевой применяется гипотеза о совпадении медианных значений двух независимых выборок, и критерия Вилкоксона (для связанных выборок).

Результаты

На рисунке 1 и 2 представлены результаты исследований превышающих значений по определению

содержания фекального гемоглобина у женщин и мужчин.



Рисунок 1 - Фиксирование превышений по содержанию гемоглобина у женщин в диапазоне превышающих концентраций (от 100 до 5000 нг/мл)

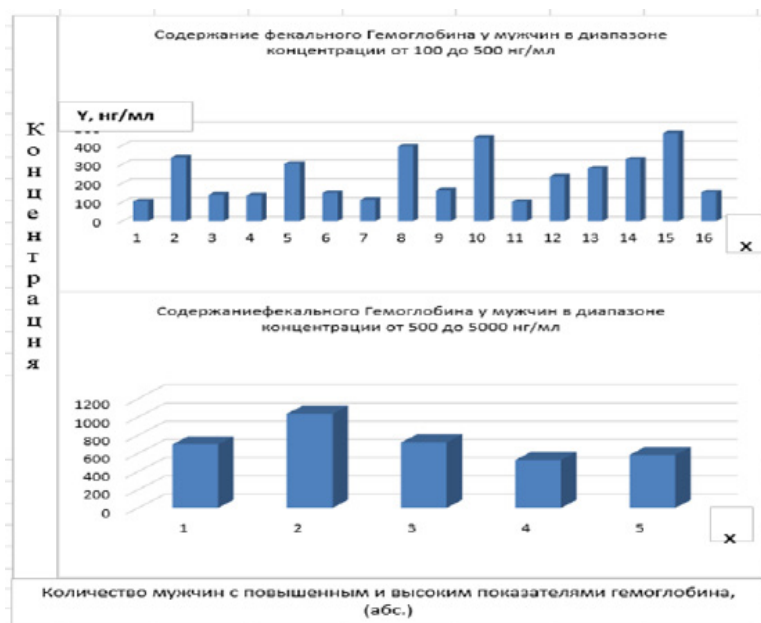


Рисунок 2 - Фиксирование превышений по содержанию гемоглобина у мужчин в диапазоне превышающих концентраций (от 100 до 5000 нг/мл)

Как видно на рисунках 1 и 2, 390 человек с патологией из них 63 человека с повышенным содержанием гемоглобина, превышение гемоглобина отмечается 16,15%.

Определение содержания трансферрина у мужчин и женщин было выявлено у 23 человек. Зафиксированные результаты с высоким содержанием представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, что из 390 человек с выявленной патологией отмечены 23 человека превышающую норму, из них 17 женщин и 5 мужчин. Результаты по высоким показателям трансферрина варьируются в диапазоне от 62 нг/мл до 361 нг/мл.

Концентрации кальпротектина, согласно с установленной методикой изучения нормируется и мужчин. в диапазоне от 0 до 100 мкг/г. На рисунках 3 и 4

Таблица 1 - Содержание трансферрина у мужчин и женщин превышающие норму

№ п/п	Трансферрин, нг/мл	Пол	№ п/п	Трансферрин, нг/мл	Пол
1	152	жен	13	62	жен
2	70	муж	14	105	жен
3	101	жен	15	200	жен
4	140	муж	16	219	жен
5	148	жен	17	96	муж
6	142	жен	18	151	муж
7	139	жен	19	96	жен
8	62	жен	20	156	жен
9	85	жен	21	98	жен
10	280	муж	22	92	жен
11	217	жен	23	152	жен
12	361	жен	-	-	-

Всего женщин с превышающим значением - 17, мужчин - 5, Норма трансферрина – менее 50 нг/мл

Данные на рисунках 3 и 4 отображают содержание кальпротектина при указанной возрастной категории. На оси у продемонстрирована группа возрастной категории, на оси x количество женщин или мужчин.

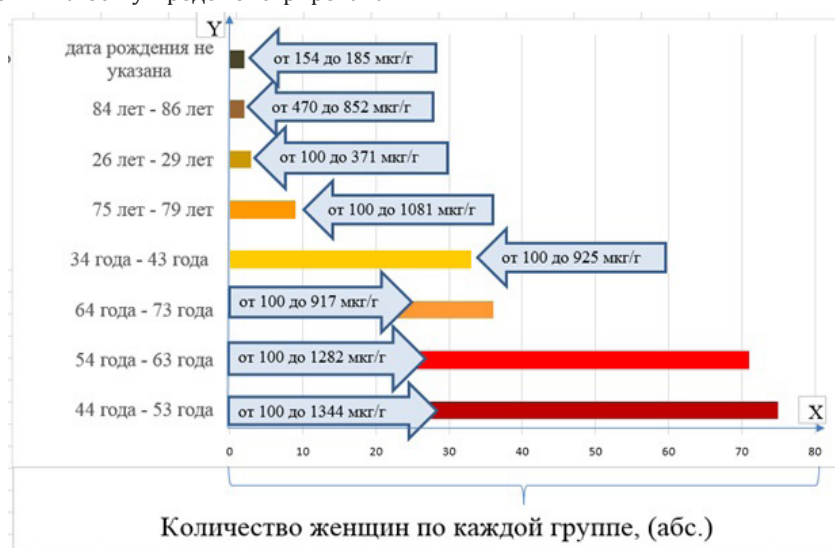


Рисунок 3 - Концентрация повышенного кальпротектина у возрастной группы женщин, мкг/г

Концентрации кальпротектина, превышающие значения норм отмечаются в диапазоне от 100 до 7835 мкг/г. У женщин высокий результат зафиксирован в диапазоне от 1200 до 1344 мкг/г, у мужчин от 7500 до 7835 мкг/г соответственно.

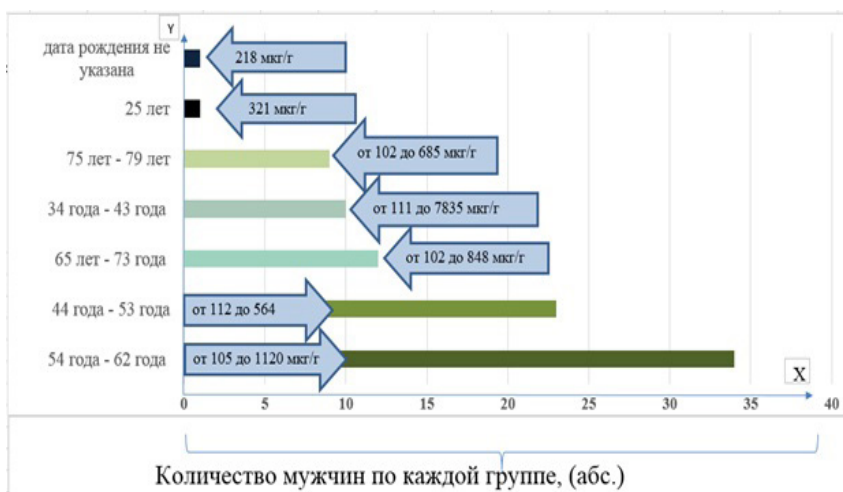


Рисунок 4 - Концентрация кальпротектина у возрастной группы мужчин, мкг/г

Учитывая все вышеизложенные результаты анализов сложилась динамика количественного распределения мужского и женского пола по превышающим гемоглобина, трансферрина,

кальпротектина в сравнении с лицами имеющие нормальные показатели. Данная динамика описана на рисунке 5.



Рисунок 5 - Встречаемость результатов, превышающие норму по содержанию кальпротектина, гемоглобина и трансферрина у женщин и мужчин, по сравнению с наблюдаемым количеством пациентов имеющие норму

При анализе полученных результатов, проделанное испытание привело к оценке нашего исследования: сформировано ранжирование показателей с увеличенным количеством, отмеченных у каждого человека. Выявлено количество людей

с одномоментным содержанием: а) Гемоглобин/Трансферрин/Кальпротектин; б) Гемоглобин/Трансферрин; в) Гемоглобин/Кальпротектин; г) Трансферрин/Кальпротектин.



Рисунок 6 - Частота встречаемости количества человек по определенным критериям

Всего, учитывая из всех общих сдавших анализов за 2 месяца - 787 человек, превышающий норму гемоглобин составляет 8%, трансферрин - 4,44% и кальпротектин - 49,5%. Отмечаются группа людей, у которых обнаружены все три показателя - 1,52%. На диаграмме представлены лица, у которых отмечены все 3 показателя превышающие норму, что составляет 12 человек. Одновременно встречаются случаи с двумя или одним показателями превышающий норму.

Анализ данных показал, что концентрация гемоглобина с высоким показателем в диапазоне от 500 нг/мл до 5000 нг/мл была отмечена у 2-х человек и с очень высоким показателем от 5000 нг/мл и выше был обнаружен 1 человек. Остальные положительные результаты по содержанию гемоглобина входят в диапазон превышения от 100 до 500 мкг/г соответственно.

По содержанию трансферрина с высокими показателями в диапазоне от 250 нг/мл до 500

нг/мл было обозначено 2 человека. Остальные с положительной регистрацией были зафиксированы в диапазоне от 50 до 250 нг/мл.

Доля кальпротектина, встречающаяся выше 350 мкг/г является высоким показателем и составляет 9,4% от общего количества сдавших лиц, т.е. у 18% от общего количества выявленных положительных случаев. Зафиксированных положительных результатов в диапазоне от 100 до 350 мкг/г наблюдается у 40,15% от общего количества зарегистрированных в испытании и у 81,03% от общей доли положительных результатов с повышенным показателем кальпротектина.

Лица, у которых обнаружены результаты в разрезе нормы составляют 50,5%.

Обсуждение

Превышающая норму концентрация гемоглобина у женщин в диапазоне от 100 до 500 нг/мл составляет 39,7% и 9,5% в диапазоне от 500 до 5000 нг/мл. Следует отметить, что вычтенный процент патологического гемоглобина рассчитывался только из учета отмеченного гемоглобина с превышением. У мужчин в разрезе концентрации гемоглобина с превышенными значениями от 100 до 500 нг/мл составляет 25,4 % и с высоким содержанием гемоглобина в диапазоне концентрации от 500 до 5000 нг/мл - 7,9 %. Показатель гемоглобина, выявленный с очень высокой концентрацией от 5000 нг/мл и выше обнаружены у 1-го мужчины и 1-й женщины у которых концентрация составила 5989 нг/мл и 9290 нг/мл соответственно. Концентрации гемоглобина, превышающие норму, варьируются от 102 до 9290 нг/мл. Результаты анализов свидетельствуют о том, что имеется скрытая кровь в нижних отделах кишечника.

Превышающий норму Tf составляет 23 человека, причем превышение нормы составляет в 7,2 раза, что соответствует 5,9%. Норма концентраций гемоглобина и трансферрина варьируется в диапазоне от 0 до 100 нг/мл и от 0 до 50 нг/мл соответственно.

Из потенциально патологических результатов (у 390 человек), отмечены 12 человек с выраженными по всем трем показателям превышения, что составило 3,08%, это говорит о скрытой форме кровотечения, язв или воспаления в верхнем и нижних отделах желудочно-кишечного тракта, в частности кишечника. Результаты, показавшие превышения по одному или двумя критериям также направлены на консультацию к узким специалистам, касательно ЖКТ.

Из 787 добровольных лиц, сдавших анализы, у 390 человек обнаружилась патология, которая составляет 49,5%. При анализе 390 человек с выявленной патологией преимущественной особенностью преобладает кальпротектин, общее количество выше нормы кальпротектина составило 350 человек, что соответствует 89,7% в расчете от количества найденной патологии. Результаты анализов раскрывают скрытую форму кишечного воспаления.

Полученные результаты позволили выявить комбинацию количественного определения, а также зафиксировать превышающие значения фекальных гемоглобина, трансферрина и кальпротектина у добровольных жителей населения, с последующим направлением на колоноскопическое исследование.

Результаты проведенного нами исследования позволили получить обзор количественного уровня фекального кальпротектина, гемоглобина и трансферрина, обуславливающие прогноз воспалительных заболеваний кишечника, а также скрытые формы КРР. Полученные результаты могут позволить выявить раннюю стадию колоректального рака, а также разрешить своевременное обращение к специалистам онкологам, эндоскопистам. На основании количественного иммунохимического исследования мы определили и сформировали выборку лиц, у которых превышали показатели кальпротектина выше 100 мкг/г, гемоглобина выше 100 нг/мл и трансферрина выше 50 нг/мл, необходимо обратить внимание, что иммунохимический анализ имеет преимущество в программах скрининга КРР, так как имеет более высокую чувствительность и разрешаемость обнаружить в течение 2-х дней фекальные

биомаркеры, которые в свою очередь служат ранней диагностикой КРР и всех воспалительных заболеваний кишечника. Обнаруженный микро-количественный положительный результат, направленный на колоноскопию подтверждает изменения в кишечнике, что позволяет с полученным обследованием на ранней стадии направить пациента на правильное лечение, либо операционного вмешательства без последующих новообразующих метастаз.

В американских рекомендациях NCCN [22], ACG (американский колледж гастроэнтерологии) [21] и USPSTF (US Preventive Service Task Force) [22] по скринингу КРР включен мультитаргетный тест ДНК в стуле (сДНК) в сочетании с ФИТ. Тест основан на исследовании ДНК из клеток слущенного кишечного эпителия, попадающих в кал, и включает определение мутаций в гене KRAS и aberrантное метилирование генов BMP3 и NDRG4, задействованных в канцерогенезе [24].

В Российской Федерации (РФ) скрининг КРР включен в программу диспансеризации взрослого населения с 2017 г. (приказ Минздрава России от 27.04.2021 г. № 404н) [24]. Исследование кала на скрытую кровь рекомендуется проводить иммунохимическим методом 1 раз в 2 года в возрасте 40–64 лет, и ежегодно в возрасте 65–75 лет. В рамках вышеуказанного приказа не уточняется какой именно, качественный или количественный ФИТ следует использовать, имеются ввиду все исследования, использующие в своей основе иммунохимическую реакцию антиген-антитело. В Российской Федерации зарегистрировано не менее 16 тест-систем для качественного ФИТ и 3 – для количественного ФИТ. Выбор теста ФИТ не регламентирован. В РФ применяется иммунохимический метод, согласно чему, мы проводили интерпретацию результатов исследования кала на трансферрин, гемоглобин и кальпротектин по следующим нормативным критериям: обнаруженные гемоглобин – менее 100 нг/мл, трансферрин – менее 50 нг/мл и кальпротектин – менее 100 мкг/г можно сказать, что при отсутствии клинических данных и содержании обоих аналитов в пределах нормативных значений рекомендуется проводить повторное исследование кала 1 раз в год у пациентов после 40 лет. В более молодом возрасте частота скрининга может быть 1 раз в 2 года. В группах высокого риска при нормальных значениях аналитов необходимо исследовать кал через каждые 6 месяцев. Если диапазон обнаружения варьирует гемоглобин – от 100 нг/мл до 500 нг/мл, трансферрин – от 50 нг/мл до 250 нг/мл это считается повышенным показателем. Для установления причины повреждения слизистой оболочки кишечника (восполительный процесс, инфекция, гельминтоз, предраковые состояния, ранняя стадия рака) и адекватной терапии необходима консультация врача (терапевта, гастроэнтеролога, инфекциониста, проктолога, онколога) с учетом семейного анамнеза в отношении онкопатологии, аутоиммунного заболевания и клинических данных. Вопрос о необходимости колоноскопии решает врач. Но чаще подобные состояния встречаются при наличии инфекции (ротавирусной инфекции, сальмонеллез, дизентерии, эшерихиозов, стафилококковой инфекции) и гельминтоза либо после применения антибиотиков, противотуберкулезных препаратов и химиотерапии.

Количественное исследование необходимо провести через 1-1,5 месяца после лечения с определением количества измененного ранее анализа – трансферрин либо гемоглобин. Повышенные показатели кальпротектина от 100 мкг/г до 350 мкг/г возможные причины: микроскопический колит, дивертикулит, кишечные инфекции, целиакия, аллергическая энтеропатия, глистно-паразитарная инвазия, синдром избыточного бактериального роста в тонком кишечнике, синдром раздраженного кишечника, наличие воспаления другой локализации. При встречаемости высокого содержания гемоглобина от 5000 нг/мл, трансферрина более 500 нг/мл необходимо установить причины при первичном обследовании обязательны колоноскопия, консультация онколога (проктолога) для исключения (подтверждения) рака и консультация гастроэнтеролога для исключения (подтверждения) болезни Крона либо других заболеваний ЖКТ. При обнаружении кальпротектина выше 350 мкг/г могут указывать на возможные причины воспалительных заболеваний кишечника, болезнь Крона и язвенный колит.

В Республике Башкортостан в рамках с крининга КРР в 2018–2021 гг. проведено

Выводы

Подводя итог проведенному нами исследованию по использованию иммунохимического метода NS-Prime в рамках пилотного проекта, выявлено 49,5% бессимптомных случаев воспаления кишечника, а также скрытой крови в верхних и нижних отделах кишечника, что свидетельствует ранней диагностике колоректального рака.

Гемоглобин, трансферрин и кальпротектин определяемый количественным иммунохимическим методом с высокой чувствительностью на сегодняшний день являются биоиндикаторами для ранней диагностики и оценки эффективности лечения воспалительных заболеваний кишечника и колоректального рака.

Основываясь на результаты проведенного нами исследования, мы считаем, что необходимо

565420 исследований ФИТ [25]. Использовали количественные тесты разных производителей. Процент положительных тестов составлял в разные годы 5,3–9% при пороговом значении ФИТ 100 нг/мл и 6,9% при пороге 50 нг/мл (нетданных в рекомендованных единицах мкг Hb/г кала). Частота КРР среди лиц, прошедших колоноскопию, 4,7–5,3%, полипов – 32–43%, что соответствует данным, полученным в других странах.

Именно поэтому в большинстве стран используется двухэтапная система скрининга, при которой инструментальное исследование толстой кишки проводится лишь пациентам с положительным результатом лабораторного исследования кала на скрытую кровь. Все население Японии старше сорока лет, согласно национальной программе скрининга колоректального рака, ежегодно обследуется с помощью иммунохимических анализов. При этом 90 процентов выявленных случаев приходится на начальные стадии рака. Совет Европейского Союза принял правила по проведению скрининга колоректального рака [19–20].

ввести программу скрининга в Казахстане по ранней диагностике воспалительных заболеваний кишечника и колоректального рака с помощью иммунохимического метода исследования кала. Есть необходимость разработки методики проведения меоприятия с последующим внесением в реестр. Также необходимо установить и внедрить нормы для каждой группы населения Казахстана.

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов, все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Данный материал не был заявлен ранее, для публикации в других изданиях и публикуется впервые.

Финансирование. Данное исследование проведено при поддержке ООО «Агрос-Интернейшнл».

Литература

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249 [[Crossref](#)]
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. - 2021. - 239 с. [[Google Scholar](#)]
3. Kaprin A.D. Starinskij V.V., Shahzadova A.O. Sostojanie onkologicheskoy pomoshhi (State of oncological care) [in Russian]. M.: MNI OI im. P. A. Gercena – filial FGBU «NMIC radiologii» Minzdrava Rossii. 2021: 239 p. [[Google Scholar](#)]
4. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. - 2021. - 252 с. [[Google Scholar](#)]
5. Kaprin A.D. Starinskij V.V., Shahzadova A.O. Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2020 godu (zabolevaemost' i smertnost') (Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality)) [in Russian]. M.: MNI OI im. P. A. Gercena – filial FGBU «NMIC radiologii» Minzdrava Rossii. 2021: 252 p. [[Google Scholar](#)]
6. Chin H.M., Hsu W.F., Chang L.C., Wu M.H. Colorectal Cancer Screening in Asia. *Curr Gastroenterol Rep.* 2017; 10; 19(10): 47. [[Crossref](#)]
7. Hashiguchi Y, Muro K, Saito Y, Ito Y, et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2019 for the treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol.* 2020; 25(1):1-42. [[Crossref](#)]
8. Shaukat A, Kahi C.J., Burke C.A., Rabeneck L., et al. ACG Clinical Guidelines: Colorectal Cancer Screening 2021. *Am J Gastroenterol.* 2021; 116(3): 458–479. [[Crossref](#)]

7. von Karsa L., Patnick J., Segnan N., Atkin W., et al. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis: overview and introduction to the full supplement publication. *Endoscopy*. 2013; 45(1): 51–59. [Crossref]
8. Полянская Е.А., Федянин М.Ю., Трякин А.А., Тюляндин С.А. Скрининг рака толстой кишки: достижения и перспективы. *Тазовая хирургия и онкология*. 2018. - №8 (4). – С.11–29. [Crossref]
- Poljanskaja E.A., Fedjanin M.Ju., Trjakin A.A., Tjuljandin S.A. Screening raka tolstoј kishki: dostizhenija i perspektivy (Cancer screening in obese men: achievements and prospects. Pelvic surgery and oncology) [in Russian]. *Tazovaja hirurgija i onkologija*. 2018; 8 (4): 11–29. [Crossref]
9. Cooper G.S., Kou T.D., Rex D.K. Complications following colonoscopy with anesthesia assistance: a population-based analysis. *JAMA Intern Med*. 2013; 173(7): 551–556. [Crossref]
10. Helsingen L.M., Kalager M. Colorectal Cancer Screening – Approach, Evidence, and Future Directions. *NEJM Evidence*. 2022 Jan; 1(1): EVIDra2100035. [Crossref]
11. Sartor R.B., Sandborn W. I. Kirsner's inflammatory bowel diseases. *Gut*. 2005; 54(8): 1208. [Crossref]
12. Dale I., Brandtzaeg P., Fagerhol M.K., Scott H. Distribution of a new myelomonocytic antigen (L1) in human peripheral blood leukocytes: immunofluorescence and immunoperoxidase staining features in comparison with lysozyme and lactoferrin. *American journal of clinical pathology*, 1985; 84(1): 24–34. [Crossref]
13. Fagerhol M.K. Calprotectin (the L1 leukocyte protein). Stimulus response coupling: the role of intracellular calcium-binding proteins, 1990: 187–210. [Crossref]
14. Isaksen B., Fagerhol M.K. Calprotectin inhibits matrix metalloproteinases by sequestration of zinc. *J. Clin. Pathol: Mol. Pathol*. 2001; 54: 289–292. [Google Scholar]
15. Steinbakk M., Naess-Andresen C.F., Fagerhol M K., Lingaas E., et al. Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin. *The Lancet*, 1990; 336(8718): 763–765. [Crossref]
16. Bernstein C. N., Eliakim A., Fedail S., Fried M., et al. World gastroenterology organisation global guidelines inflammatory bowel disease: update August 2015. *Journal of clinical gastroenterology*, 2016; 50(10): 803–818. [Crossref]
17. Van Assche G., Dignass A., Bokemeyer B., Danese S., et al. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 3: special situations. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2013; 7(1): 1–33. [Crossref]
18. von Arnim U., Ganzert C., Wex T., Schulz C., Malfertheiner P. Faecal calprotectin useful for clinical differentiation of microscopic colitis and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 2011; 5(140): S-88. [Crossref]
19. Chin H.M., Hsu W.F., Chang L.C., Wu M.H. Colorectal Cancer Screening in Asia. *Curr Gastroenterol Rep*. 2017; 19(10): 47. [Crossref]
20. Von Karsa L., Patnick J., Segnan N. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. Executive summary. *Endoscopy*, 2012; 44(S 03): SE1–SE8. [Crossref]
21. Shaikat A., Kahi C.J., Burke C.A., Rabeneck L., Sauer B.G., Rex D.K. ACG Clinical Guidelines: Colorectal Cancer Screening 2021. *Am J Gastroenterol*. 2021; 116(3): 458–479. [Crossref]
22. Davidson K.W., Barry M.J., Mangione C.M., Cabana M., et al. Screening for Colorectal Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*. 2021;325(19):1965–1977. [Crossref]
23. Imperiale T.F., Ransohoff D.F., Itzkowitz S.H., Turnbull B.A., Ross M.E. Colorectal Cancer Study Group. Fecal DNA versus fecal occult blood for colorectal-cancer screening in an average-risk population. *N Engl J Med*. 2004; 351(26): 2704–2714. [Crossref]
24. Об утверждении Порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации; от 27.04.2021 № 404н. Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202106300043>
- Ob utverzhenii Porjadka provedenija profilakticheskogo medicinskogo osmotra i dispanserizacii opredelennyh grupp vzroslogo naselenija. Prikaz Ministerstva zdavoohranenija Rossijskoj Federacii (About the approval of the procedure for preventive medical examination and dispensation of certain groups of the adult population. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation) [in Russian]; ot 27.04.2021 № 404n. Rezhim dostupa: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202106300043>
25. Забелин М.В., Измайлов А.А., Аюпов Р.Т., Закирова Л.К. и др. Организация онкологической службы Республики Башкортостан // Злокачественные опухоли. 2021. - №11(3s1). – С. 6–11. [Crossref]
- Zabelin M.V., Izmajlov A.A., Ajupov R.T., Zakirova L.K. i dr. Organizacija onkologicheskoy sluzhby Respubliki Bashkortostan (Organization of Oncological Service of the Republic of Bashkortostan) [in Russian]. *Zlokachestvennye opuholi*. 2021; 11(3s1): 6–11. [Crossref]

Ішектің қабыну аурулары мен тоқ ішек обырын ерте диагностикалаудың заманауи иммунохимиялық әдісі

Кулкаева Г.У.¹, Мукажанов А.К.², Керимбекова Г.Р.³, Суюнова А.Б.⁴

¹ Ұлттық ғылыми онкологиялық орталық басқармасының төрайымы, Астана, Қазақстан, E-mail: gulnara1412@mail.ru

² Ұлттық ғылыми онкологиялық орталық басқарма төрайымының медициналық қызмет жөніндегі орынбасары, Астана, Қазақстан. E-mail: aktukazhanov@mail.ru

³ Ұлттық ғылыми онкологиялық орталықтың клиникалық диагностикалық зертханасының меңгерушісі, Астана, Қазақстан. E-mail: zhan-1803@mail.ru

⁴ Ұлттық ғылыми онкологиялық орталықтың клиникалық диагностикалық зертханасының маманы, Астана, Қазақстан. E-mail: ayagozz@mail.ru

Түйіндеме

Ішек ауруларының клиникалық көріністерінің ерекше еместігі нозологиялық деңгейде дер кезінде диагноз қоюды өте қиындатады. Іштің ауыруы, ішек моторикасының бұзылуы, нәжіс консистенциясының өзгеруі, метеоризм, диарея органикалық

және функционалды сипаттағы ішек ауруларының кең ауқымында байқалады. Керісінше, бірқатар ісік алды аурулар, атап айтқанда, ішеkte аденомалардың дамуы әдетте симптомсыз өтеді. Бұл белгілердің болуы зертханалық және аспаптық диагностика әдістерін қолдана отырып, науқасты кешенді тексерудің көрсеткіші болып табылады.

Зерттеудің мақсаты: Ішектің қабыну ауруларын анықтау және тоқ ішек обырын ерте диагностикалау үшін Қазақстан Республикасының ерікті тұрғындарынан алынған нәжіс үлгісінің иммунохимиялық талдау нәтижелерін зерттеу.

Әдістері. Бұл зерттеу жұмысы Ұлттық ғылыми онкология орталық базасында пилоттық жоба ретінде жүзеге асырылды. Жалпы саны 787 ерікті қатысушының нәжіс биоматериалы гемоглобин, трансферрин және калпротектин құрамын анықтау үшін зерттелді. Биоматериалды (нәжіс үлгілерін) талдау үшін иммунохимиялық әдіс пен екі күндік арнайы контейнерлер қолданылды. Бір мезгілде сандық анықтау NS-Prime автоматты дискретті анализаторы, коллоидты алтыны бар (Жапонияда өндірілген) үлгілерді және арнайы жасалған реагенттерді жинауға арналған бірегей контейнерді қолдану арқылы жүргізілді.

Нәтижесі. Патологиясы бар жалпы 390 адам анықталды, оның ішінде 63 (16,15%) адамда гемоглобин мөлшері жоғары, гемоглобин асып кеткен. 12 адамда бір мезгілде гемоглобин/трансферрин/кальпротектин анықталды. Трансферрин 23 адамда анықталды, оның ішінде 17 әйел және 5 ер адам болды. Анықталған трансферриннің нәтижелері 62 нг/мл мен 361 нг/мл аралығында болды, яғни нормадан асып кету деңгейі - 7,2 есе, бұл 5,9%-ға сәйкес. Калпротектиннің үлесі 350 мкг/г жоғары қатысушылардың үлесі 9,4% (жалпы тіркелген оң жағдайлардың 18%-ы) құрады. Сонымен қатар осы көрсеткіштің 100-ден 350 мкг/г-ға дейін ауытқитын деңгейі жалпы қатысушылардың 40,15%-ында анықталды. Бұл калпротектин индексі жоғарылаған оң нәтижелі қатысушылардың 81,03% құрады. Нәжісті талдау нәтижелері қалыпты деңгейде болғандар 50,5% құрады.

Қорытынды. Ұлттық онкологиялық ғылыми орталықтың пилоттық жобасы аясында NS-Prime иммунохимиялық әдісін қолданып жүргізген зерттеуімізді қорытындылайтын болсақ, қатысушылардың 49,5%-ында ішек қабынуының симптомсыз жағдайларының, сондай-ақ, жоғарғы және төменгі ішектердегі жасырын қан кетуінің белгілері анықталды. Бұл тоқ ішек қатерлі ісігінің ерте диагностикалық белгісі ретінде қарастырылады.

Жоғары сезімталдықты сандық иммунохимиялық әдіспен нәжісте анықталатын гемоглобин, трансферрин және кальпротектин қазіргі уақытта ішектің қабыну аурулары мен тоқ ішек обырын емдеудің тиімділігін ерте диагностикалау және бағалауға арналған биомаркер ретінде қарастырылады.

Біз өз зерттеу жұмысымыздың нәтижесіне сүйеніп, қарастырып отырған барлық үш индикатордың концентрациясы мен кездесу жиілігіне байланысты Қазақстан Республикасында иммунохимиялық зерттеу әдісін қолдану арқылы ішектің қабыну аурулары мен колоректальды қатерлі ісіктің скринингтік бағдарламасын енгізу қажет деп санаймыз айта кетеміз. Тұрғындардың әрт тобына арналған деңгейді анықтап, сәйкес реестрге енгізу қажет деп санаймыз.

Түйін сөздер: иммунохимиялық талдау, кальпротектин, трансферрин, гемоглобин, тоқ ішек ісігі, ішек қабынуы.

Modern Immunochemical Method for Early Diagnosis of Inflammatory Bowel Diseases and Colorectal Cancer

Gulnara Kulkayeva ¹, Adilbek Mukazhanov ², Gulzhan Kerimbekova ³, Ayagoz Suyunova ⁴

¹ Chairman of the Board, National Scientific Cancer Center, Astana, Kazakhstan. E-mail: gulnara1412@mail.ru

² Deputy Chairman of the Board for Medical Activities, National Scientific Cancer Center, Astana, Kazakhstan.
E-mail: akumkazhanov@mail.ru

³ Head of Clinical Diagnostic Laboratory, National Scientific Cancer Center, Astana, Kazakhstan, E-mail: zhan-1803@mail.ru

⁴ Clinical diagnostic laboratory specialist, National Scientific Cancer Center, Astana, Kazakhstan, E-mail: ayagozz@mail.ru

Abstract

The nonspecificity of the clinical manifestations of intestinal diseases makes it extremely difficult to make a timely diagnosis at the nosological level. Abdominal pain, impaired intestinal motility, changes in stool consistency, flatulence, diarrhea are observed in a wide range of intestinal diseases, both organic and functional in nature. On the contrary, a number of precancerous diseases, in particular the development of adenomas in the intestine, are usually asymptomatic. The presence of these symptoms is an indication for a comprehensive examination of the patient, using methods of laboratory and instrumental diagnostics.

The purpose of this research. To study the results of immunochemical analysis of a stool sample from voluntary residents of the Republic of Kazakhstan for the detection of inflammatory bowel diseases and for the early diagnosis of colorectal cancer.

Methods. As part of the implementation of the pilot project in the conditions of the National Scientific Oncology Center, the selection of biomaterial (stool samples) from voluntary residents with further research using the immunochemical method was carried out. In total, fecal biomaterial was examined in 787 people to determine the content of hemoglobin, transferrin and calprotectin. Simultaneous quantitative determination was carried out using an automatic discrete analyzer NS-Prime - a unique container for collecting samples and specially developed reagents containing colloidal gold (made in Japan).

Results. As a result of our research, 390 people with pathological changes were identified. Of them, 63 (16.15%) people have an increased hemoglobin content in fecal biomaterial. Transferrin was detected in 23 people, including 17 women and 5 men. Total hemoglobin/transferrin/calprotectin content was revealed in 12 voluntary participants. Transferrin results varied in the range of 62-361 ng/ml. The rate of excess was 7.2 times, which corresponds to 5.9%. The share of calprotectin found above 350 µg/g was 9.4% of the total number of persons who submitted biomaterials (18% of positive cases), while the recorded positive results in the range from 100 to 350 µg/g were observed in 40.15% of persons from the total of the number registered in the test, 81.03% were positive with an increased calprotectin index. The share of persons with registered results in the section norm was 0.5%.

Conclusions. Thus, within the framework of our pilot project, 49.5% of asymptomatic cases of intestinal inflammation, as well as occult blood in the upper and lower parts of the intestine, were identified, which indicates early diagnosis of colorectal cancer. Today, hemoglobin, transferrin and calprotectin, determined by the quantitative immunochemical method with high sensitivity, are bioindicators of early diagnosis, as well as evaluation of the effectiveness of treatment of inflammatory bowel diseases and colorectal cancer. We believe that taking into account the revealed concentration and frequency of occurrence of the indicators studied by us within the framework of this study, there is a need to introduce a program for screening inflammatory bowel diseases and colorectal cancer in the country using the immunochemical method of stool examination. It is necessary to develop a methodological study as an immunochemical method with the indication of the norm for each group of the population and enter the data into the appropriate register.

Key words: immunochemical analysis, calprotectin, transferrin, hemoglobin, colorectal cancer, intestinal inflammation.