

УДК 618.14-006.6

ИНФОРМАТИВНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ ОНКОМАРКЕРОВ В АСПИРАЦИОННОМ БИОПТАТЕ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ТЕЛА МАТКИ

Коваленко Н.В.¹, Жаворонкова В.В.¹, Демидов И.А.², Антоненко Г.В.²

¹ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер», Волгоград, e-mail: nadvitkovalenko@rambler.ru;

²ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: okt@rostgmu.ru

Цель исследования: повышение диагностической эффективности аспирационной биопсии эндометрия по Пайпелю при выявлении рака тела матки. Обследованы 79 пациенток с диагнозом рака тела матки I-II стадии по FIGO и 23 здоровые пациентки контрольной группы. Забор материала из полости матки проводили при помощи аспирационного катетера Pipelle («Laboratoire C.C.D.», Франция). Полученный биоптат направляли для гистологического и цитологического, молекулярно-генетического исследования. Определяли концентрацию DJ-1 в тканевых экстрактах эндометрия маточного аспирата. Результаты оптимизированной пайпель-биопсии сравнивали с золотым стандартом (прицельное диагностическое выскачивание эндометрия под контролем гистероскопии с последующим гистологическим исследованием соскоба) для расчета показателей чувствительности и специфичности. Среди больных I стадия выявлена у 53 (67,1%), а II стадия – у 26 (32,9%) человек. Возраст пациенток основной группы в среднем составил $64,4 \pm 2,5$ года, а контрольной группы – $59,9 \pm 2,0$ года. Установлено, что концентрация DJ-1 в маточном аспирате у больных при раке тела матки I-II стадий превышала аналогичный показатель в контрольной группе здоровых женщин в 4,2 раза ($p < 0,001$): $53,36 \pm 14,9$ против $11,98 \pm 1,7$ УЕ/мг белка в лунке. Методом ROC-анализа определена дифференциальная разделительная точка концентрации (38,2 УЕ/мг белка в лунке), позволяющая разграничить пациенток двух групп – с наличием и отсутствием рака тела матки ранних стадий – с диагностической чувствительностью 93,7% и специфичностью 95,7%. Диагностическая точность оптимизированного метода по сравнению со стандартной пайпель-биопсией возросла с 83,3% до 94,1%. Применение молекулярно-генетических исследований маточного аспирата при пайпель-биопсии расширяет диагностические возможности метода при скрининге рака тела матки. Протеин DJ-1 в тканевых фрагментах аспирационного биоптата эндометрия можно рассматривать как онкомаркер рака тела матки.

Ключевые слова: рак тела матки, биологические маркеры, биопсия эндометрия, диагностическая информативность.

INFORMATION VALUE OF THE STUDY OF ONCOMARKERS IN ENDOMETRIAL ASPIRATION BIOPSY IN THE DIAGNOSIS OF UTERINE CANCER

Kovalenko N.V.¹, Zhavoronkova V.V.¹, Demidov I.A.², Antonenko G.V.²

¹Volgograd Regional Clinical Oncological Dispensary, Volgograd, e-mail: nadvitkovalenko@rambler.ru;

²«Rostov state medical university» of Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, e-mail: okt@rostgmu.ru

To increase the diagnostic efficiency of endometrial aspiration biopsy according to Pipelle in detecting uterine cancer. 79 patients diagnosed with cancer of the body of the uterus stage I-II according to FIGO and 23 healthy patients of the control group were examined. Material was taken from the uterine cavity using a Pipelle aspiration catheter (Laboratoire C.C.D., France). The resulting biopsy was sent for histological and cytological, molecular genetic studies. The concentration of DJ-1 in tissue extracts of endometrial uterine aspirate was determined. The results of the optimized Pipel biopsy were compared with the gold standard (targeted diagnostic endometrial curettage under hysteroscopy followed by histological examination of the scraping) to calculate sensitivity and specificity. Among patients, stage I was detected in 53 (67,1%), and stage II in 26 (32,9%) people. The age of patients in the main group averaged $64,4 \pm 2,5$ years, and in the control group $59,9 \pm 2,0$ years. It was found that the concentration of DJ-1 in the uterine aspirate in patients with stage I-II uterine body cancer exceeded that in the control group of healthy women by 4,2 times ($p < 0,001$): $53,36 \pm 14,9$ versus $11,98 \pm 1,7$ AU/mg protein per well. The ROC analysis method determined the differential dividing point of the concentration (38,2 AU/mg of protein per well), which makes it possible to distinguish between patients of two groups - with and without early-stage uterine cancer with a diagnostic sensitivity of 93,7% and a specificity of 95,7%. The diagnostic accuracy of the optimized method increased from 83,3% to 94,1% compared to the standard Pipel biopsy. The use of molecular genetic studies of uterine aspirate in Pipel biopsy expands the diagnostic capabilities of the method in screening for cancer

of the uterine body. The DJ-1 protein in tissue fragments of endometrial aspiration biopsy can be considered as a tumor marker for uterine body cancer.

Keywords: uterine cancer, biological markers, endometrial biopsy, diagnostic value.

Рак тела матки относится к распространенным злокачественным гинекологическим заболеваниям, занимая 6-е место по распространенности среди женщин, страдающих злокачественной онкологической патологией [1, 2]. Ежегодно в мире рак тела матки диагностируется с частотой 300 000 новых случаев, что составляет 8,2% от первичной заболеваемости раком среди женщин [3]. При выявлении заболевания на I стадии пациентки с диагнозом рака тела матки имеют высокие показатели 5-летней выживаемости (95,3%) [4], что требует совершенствования скрининговых и диагностических мероприятий.

Постменопаузальное маточное кровотечение является частым симптомом эндометриального рака. Однако только у 5–10% женщин с постменопаузальными маточными кровотечениями выявляют эндометриальный рак [5]. Для исключения диагноза «рак тела матки» пациенткам с маточным кровотечением проводят трансвагинальное ультразвуковое сканирование, гистероскопию с прицельной биопсией эндометрия, аспирационную биопсию эндометрия по Пайпелю [6–8]. Каждый из методов имеет свою ценность и недостатки. Аспирационная биопсия эндометрия по Пайпелю относится к малоинвазивным, неболезненным и быстрым манипуляциям. В аспират полости матки попадают эпителиальные клетки эндометрия, что является ценным биологическим материалом при диагностике рака эндометрия [9]. Недостатком пайпель-биопсии является то, что забор аспирата проводится из разных участков полости матки вслепую. Комплексирование жидкостной цитологии, гистологических исследований аспирационного биоптата эндометрия с молекулярно-генетическими методами направлено на оптимизацию методики и совершенствование ее эффективности [10, 11]. Сочетание пайпель-биопсии не только с морфологическими, но и с молекулярно-генетическими исследованиями открывает новые перспективы в развитии метода.

Целью работы явилось повышение диагностической эффективности аспирационной биопсии эндометрия по Пайпелю при выявлении рака тела матки.

Материал и методы исследования

Для реализации поставленной задачи было проведено межцентровое сравнительное контролируемое исследование больных раком тела матки, проходивших диагностическое обследование в государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер» (ГБУЗ «ВОКОД»).

В работу включали 79 пациенток с диагнозом рака тела матки I-II стадии по FIGO (основная группа). В качестве контрольной группы выступали 23 здоровые пациентки.

В основной и контрольной группах осуществляли аспирационную биопсию эндометрия по Пайпелю. Результаты стандартной и оптимизированной пайпель-биопсии сравнивали с итогами прицельного диагностического выскабливания эндометрия под контролем гистероскопии с последующим гистологическим исследованием соскоба, который принимали как золотой стандарт выявления рака тела матки на ранних стадиях до проведения операции [12].

Гистологическое и цитологическое исследование содержимого полости матки при пайпель-биопсии рассматривали как стандартную реализацию метода [13], а для оптимизации методики проводили иммуноферментный анализ аспирата. Посредством иммуноферментного анализа измеряли концентрацию дегликазы DJ-1 в тканевых экстрактах эндометрия маточного аспирата у больных и здоровых пациенток. Выявляли дифференциально разделительную точку концентрации дегликазы маточного аспирата для раннего выявления рака тела матки. Результаты стандартной и оптимизированной пайпель-биопсии сравнивали с золотым стандартом для расчета показателей чувствительности и специфичности.

Критериями включения в исследование явились: гистологически подтвержденное злокачественное новообразование тела матки (эндометрия) (C54.1 по МКБ10) при гистероскопии с направленной биопсией эндометрия; одновременное выполнение пайпель-биопсии и прицельной биопсии эндометрия; отсутствие до момента проведения первичной диагностики специализированного противоопухолевого лечения.

В работу не включали результаты при наличии у пациентов следующих факторов: декомпенсация сопутствующих соматических заболеваний, таких как сердечная недостаточность, почечная недостаточность, онкологические заболевания иной локализации, гормональное лечение перед взятием образцов.

К критериям исключения относили потерю результатов на любом этапе работы.

Забор материала из полости матки проводили при помощи аспирационного двухканального катетера Pipelle («Laboratoire C.C.D.», Франция).

Для иммуноферментного анализа тканевые экстракти приготавливали из 100 мг замороженной ткани эндометрия. Фрагменты ткани гомогенизировали в жидким азоте, далее ресусцинировали в 500 мкл фосфатного буфера с pH 7,4, содержащего 0,137 M NaCl, 0,0027 M KCl, 0,01 M Na₂HPO₄, 0,0017 M KH₂PO₄, инкубировали в течение 15 мин при постоянном помешивании при температуре 4°C, затем центрифугировали 10000 об/мин при температуре 4°C на ультрацентрифуге OPTIMA L-100K (Beckman Coulter, США). Полученный супернатант использовали для иммуноферментного анализа. Прямое количественное определение

концентрации белковой дегликазы DJ-1 в клеточном гомогенате маточного аспирата осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью специфических тест-систем CircuLex Human DJ-1 / PARK7 ELISA Kit (CycLex Co., Ltd. Япония) на аппарате iMARK (Bio-Rad Laboratories, США).

Статистический анализ выполняли при помощи программы Statistica 12.0 (StatSoft, США).

Результаты исследования и их обсуждение

Обследованы 79 пациенток с диагнозом рака тела матки I-II стадии по FIGO (основная группа) и 23 здоровые пациентки контрольной группы. Среди больных I стадия выявлена у 53 (67,1%), а II стадия – у 26 (32,9%) человек. Возраст больных основной группы составил от 55 до 72 лет, в среднем $64,4 \pm 2,5$ года. Возрастной диапазон здоровых пациенток – 51–63 года, в среднем $59,9 \pm 2,0$ года. На момент постановки диагноза рака тела матки больные преимущественно находились в постменопаузе ($n=71$, 89,9%), остальные 8 (10,1%) обследуемых пациенток – в пре-/перименопаузе. В контрольной группе у 19 (82,6%) женщин отмечали постменопаузу и у 4 (17,4%) – перименопаузу.

Среди 79 больных основной группы при гистологическом исследовании был идентифицирован эндометриальный рак.

Проведение в основной и контрольной группах аспирационной биопсии эндометрия по Пайпелю по стандарту методики с гистологическим и цитологическим исследованием аспирата позволило установить, что диагностическая чувствительность составила 81% ($n=64$), специфичность метода по сравнению с золотым стандартом – 91,3% ($n=21$), количество ложноположительных наблюдений было 2 (8,7%), ложноотрицательных – 15 (19%), диагностическая точность составила 83,3%.

При прямом количественном определении концентрации DJ-1 в клеточном гомогенате маточного аспирата установлено, что содержание белковой дегликазы в исследуемом субстрате в основной группе составило $53,36 \pm 14,9$ УЕ/мг белка в лунке (межквартильный диапазон 43,2–64,7 УЕ/мг белка в лунке, медиана 51,8 УЕ/мг белка в лунке), а в контрольной группе – $11,98 \pm 1,7$ УЕ/мг белка в лунке (межквартильный диапазон 10,5–13,1 УЕ/мг белка в лунке, медиана 12,3 УЕ/мг белка в лунке) (табл. 1).

Таблица 1

Результаты определения концентрации белковой дегликазы DJ-1 (УЕ/мг белка в лунке)
в маточном аспирате

Статистическая величина	Основная группа $n=79$	Контрольная группа $n=23$
$M \pm SD$	$53,36 \pm 14,9$	$11,98 \pm 1,7$
Медиана	51,8	12,3

Межквартильный диапазон	43,2–64,7	10,5–13,1
Доверительный интервал 95%	50,0–56,7	11,2–12,7
Размах (минимум–максимум)	9,7–88,8	8,6–15,2
p*	p*<0,001	
cut-off, p	38,2; p<0,001	

Примечание: p* – различие между группами определяли по критерию Манна–Уитни.

Концентрация DJ-1 в маточном аспирате у больных при раке тела матки I–II стадий превышала аналогичный показатель в контрольной группе здоровых женщин в 4,2 раза (p<0,001).

Методом ROC-анализа определена дифференциальная разделительная точка концентрации cut-off (38,2 УЕ/мг белка в лунке), позволяющая разграничить пациенток двух групп – с наличием и отсутствием рака тела матки ранних стадий – с диагностической чувствительностью 93,7% и специфичностью 95,7%.

Площадь под ROC-кривой составила (Area under ROC) 0,946±0,023 (доверительный интервал 0,882–0,981) (z=19,27; p<0,001), что указывало на высокое качество диагностического правила. При превышении уровня белковой дегликазы DJ-1 в клеточном гомогенате маточного аспирата выше 38,2 УЕ/мг белка в лунке относительный риск выявления злокачественной эпителиальной опухоли тела матки повышался в 7,84 раза (доверительный интервал 3,5–9,6) (p<0,001) (табл. 2).

Таблица 2

Соотношение чувствительности и специфичности метода выявления рака тела матки по концентрации DJ-1 в маточном аспирате

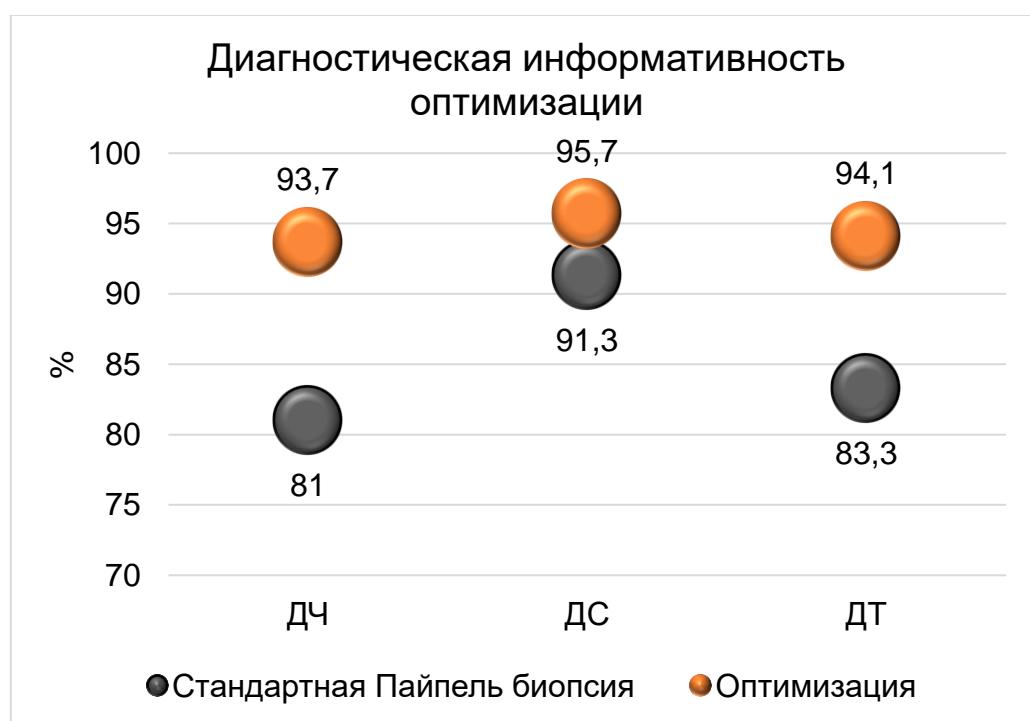
DJ-1 УЕ/мг белка в лунке	Чувствительность		Специфичность		Отношение шансов
	Величина	Доверительный интервал	Величина	Доверительный интервал	
≥8	100,00	95,4–100,0	0,00	0,0–14,8	1,00
>12,4	98,73	93,1–100,0	0,00	0,0–14,8	0,99
>15,2	98,73	93,1–100,0	8,70	1,1–28,0	1,08
>19,7	96,20	89,3–99,2	8,70	1,1–28,0	1,05
>25,9	96,20	89,3–99,2	34,78	16,4–57,3	1,48
>31,4	94,94	87,5–98,6	39,13	19,7–61,5	1,56
>34,8	94,94	87,5–98,6	52,17	30,6–73,2	1,99
>36,3	93,67	85,8–97,9	52,17	30,6–73,2	1,96
>38,2*	93,67	85,8–97,9	95,65	78,1–99,9	7,84
>56,4	83,54	73,5–90,9	95,65	78,1–99,9	9,22
>65,1	83,54	73,5–90,9	100,00	85,2–100,0	10,47
>72,6	0,00	0,0–4,6	100,00	85,2–100,0	10,56

Примечание: * – точка cut-off

К настоящему времени установлен факт опухолевой экспрессии белка DJ-1 в двух десятках различных злокачественных опухолей, главным образом, эпителиального

происхождения [14]. DJ-1 способствует пролиферации опухолевых клеток и играет важную роль в патогенезе рака тела матки путем модуляции супрессора опухолей PTEN, активации сигнального пути через receptor ростового фактора фибробластов-1 (FGFR1), изучаемый протеин регулирует проницаемость эндотелия сосудов, повышает устойчивость раковых клеток к апоптозу [15].

На следующем этапе определяли информативность оптимизации аспирационной биопсии эндометрия по Пайпелю в комплексе с оценкой концентрации в тканевом экстракте маточного аспирата онкомаркера DJ-1. Среди 15 ложноотрицательных наблюдений у 10 пациенток отсутствие информации о злокачественной патологии эндометрия после морфологического исследования биоптата сопровождалось повышением концентрации DJ-1 в маточном аспирате выше 38,2 УЕ/мг белка в лунке. Среди двух ранее установленных ложноположительных наблюдений в одном случае концентрация DJ-1 в маточном аспирате была ниже 38,2 УЕ/мг белка в лунке. В результате диагностическая чувствительность оптимизированной методики пайпель-биопсии составила 93,7% (n=74), а диагностическая специфичность метода достигала 95,7% (n=22). Количество ложноположительных наблюдений было 1 (4,3%), ложноотрицательных – 5 (6,3%). Диагностическая точность метода возросла с 83,3% до 94,1% % (рис.).



Диагностическая информативность стандартной и оптимизированной пайпель-биопсии при выявлении рака тела матки ранних стадий

Таким образом, определение концентрации дегликазы DJ-1 в тканевом экстракте эндометрия с помощью иммуноферментного анализа обеспечило снижение доли ложноотрицательных и ложноположительных результатов, а следовательно, повышение

диагностической информативности пайпель-биопсии при проведении скрининга пациенток в постменопаузе с целью раннего выявления злокачественных заболеваний тела матки.

Выводы

1. При пайпель-биопсии в тканевом экстракте маточного аспиранта при скрининге рака тела матки рекомендуется определять концентрацию белковой дегликазы DJ-1. При превышении концентрации DJ-1 в маточном аспиранте выше разделительного уровня 38,2 УЕ/мг белка в лунке скрининг рака тела матки считают положительным с диагностической чувствительностью 93,7% и диагностической специфичностью 95,7% ($p<0,001$).
2. Определение онкомаркера DJ-1 в маточном аспиранте повышает диагностическую точность пайпель-биопсии с 83,3% до 94,1% при выявлении рака тела матки на ранних стадиях.

Список литературы

1. Tzur T., Kessous R., Weintraub A.Y. Current strategies in the diagnosis of endometrial cancer. Archives of Gynecology and Obstetrics. 2017. Vol. 296 (1). P. 5-14. DOI: 10.1007/s00404-017-4391-z.
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году / Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2022. 239 с.
3. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. A Cancer Journal for Clinicians. 2018. Vol. 68. P. 394–424. DOI: 10.3322/caac.21492.
4. Хохлова С.В., Базаева И.Я. Оптимальная тактика адьювантного лечения больных раком тела матки // Фарматека. 2017. Т. 341. № 8. С. 29-35.
5. Lim L., Yang Y.C., Wu C.C., Hsu Y.T., Chang C.L. Screening of Endometrial Cancer Using Cervical Swab. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research. 2018. Vol. 44. P. 1514.
6. Ашрафян Л.А., Антонова И.Б., Ивашина С.В., Бабаева Н.А., Алешикова О.А., Баранов И.И. Оптимизация диагностической тактики у пациенток с аномальными маточными кровотечениями в периоды пери- и постменопаузы // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. 2019. Т. 7. № 1. С. 24-30. DOI: 10.24411/2303-9698-2019-11003.
7. Демидов В.Н., Портнова Н.И., Полякова Ю.В., Байшур М.В. Значение ежегодного ультразвукового эхографического поликлинического скрининга в снижении частоты заболеваемости раком эндометрия // Исследования и практика в медицине. 2018. № 5. С. S31.

8. Табакман Ю.Ю., Иванов А.Е., Тараканова О.В. Возможности цитологического исследования для диагностики рака эндометрия // Московская медицина. 2019. Т. 34. № 6. С. 95-96.
9. Fulciniti F., Yanoh K., Karakitsos P., Watanabe J., Di L.A., Margari N., Maeda Y., Kihara M., Norimatsu Y., Kobayashi T.K., Hirai Y. The Yokohama system for reporting directly sampled endometrial cytology: the quest to develop a standardized terminology. Diagnostic cytopathology. 2018. Vol. 46. P. 400-412. DOI: 10.1002/DC.23916.
10. Yanaki F., Hirai Y., Sakamoto K., Kamata M., Fujiwara F., Tamura T., Yanoh K., Norimatsu Y., Kasai T., Teramoto K., Kurokawa T., Takahashi Y., Iwanari O., Suzuki M. Liquid based endometrial cytology using SurePath™ is not inferior to suction endometrial tissue biopsy for detecting endometrial malignancies: Midterm report of a multicenter study advocated by Japan Association of Obstetricians and Gynecologists. Cytopathology. 2019. Vol. 30 (2). P. 223-228. DOI: 10.1111/cyt.12657.
11. Карпова А.Е., Шабалова И.П., Созаева Л.Г., Тумгоева Л.Б. Значение комплексного цитологического исследования в диагностике патологии эндометрия (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. 2021. Т. 66. № 2. С. 87-94. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-2-87-94.
12. Клинические Рекомендации Минздрава России «Рак тела матки и саркомы матки». 2021. 65 с.
13. Сабанцев М.А., Баженова Л.Г., Шрамко С.В., Левченко В.Г., Маркина Л.А., Хвостова Е.П. Информативность стандартных методов диагностики пролиферативных заболеваний эндометрия // Российский вестник акушера-гинеколога. 2017. Т. 17. № 1. С. 62-66. DOI: 10.17116/rosakush201717162-66.
14. Benati M., Montagnana M., Danese E., Paviati E., Giudici S., Ruzzenente O., Venturella R., Mancuso S., Zullo F., Cuda G., Costanzo F. The clinical significance of DJ-1 and HE4 in patients with endometrial cancer. Journal of Clinical Laboratory Analysis. 2018. Vol. 32. P. e22223. DOI: 10.1002/jcla.22223.
15. Di Cello A., Di Sanzo M., Perrone F.M., Santamaria G., Rania E., Angotti E., Venturella R., Mancuso S., Zullo F., Cuda G., Francesco Costanzo F. DJ-1 is a reliable serum biomarker for discriminating high-risk endometrial cancer. Tumor Biology. 2017. Vol. 39. P. 1-9. DOI: 10.1177/1010428317705746.