

УДК 616-073.916

## ВИЗНАЧЕННЯ РАКОВО-ЕМБРІОНАЛЬНОГО АНТИГЕНУ МЕТОДОМ РАДІОІМУНОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ

Лошак М.Я.

Ужгородський національний університет

### Вступ

Серед сучасних методів визначення слідових кількостей органічних речовин виділяють радіоімунологічний метод аналізу (RIA). Метод базується на насиченні специфічно зв'язуючого агенту лігандом і конкурентній взаємодії мічених і немічених лігандів із зв'язуючими білками [1]. Висока чутливість, селективність, відтворюваність дозволяють використовувати його в клінічних дослідженнях, зокрема, онкології [2-4].

Метою даної роботи є визначення ефективності використання раково-ембріонального антигену для діагностики раку шлунку методом радіоімунологічного аналізу

### Матеріали та методи

Використовували набір реактивів для радіоімунологічного визначення раково-ембріонального антигену у сироватці крові РЕА -  $^{125}\text{I}$  - М.

У склад набору входять:

1. РЕА, ліофілізований препарат;
2. 6 калібрувальних проб РЕА у сироватці крові з наступними концентраціями: 0 нг/мл ( $C_0$ ), 5 нг/мл ( $C_1$ ), 15 нг/мл ( $C_2$ ), 45 нг/мл ( $C_3$ ), 120 нг/мл ( $C_4$ ), 360 нг/мл ( $C_5$ );
3. антисироватка до РЕА;
4. контрольна сироватка;
5. преципітуючий агент С.

Набір розрахований на проведення аналізу у дублікатах 42 невідомих проб, загальної активності РЕА у пробірці, 6 калібрувальних проб і 1 контрольної сироватки.

Для аналізу використовували наступні прилади, матеріали і реактиви:

1. Сцинтиляційний лічильник "Гамма - 1" для вимірювання активності ізотопу I(125).
2. Центрифуга з горизонтальним ротором.
3. Віхревий змішувач.
4. Прилад для струшування пробірок.
5. Магнітна мішалка.
6. Напівавтоматичні піпетки із змінними наконечниками.
7. Пробірки скляні і штатив для них.
8. Піпетка скляна.
9. Стакан хімічний.
10. Вода дистильована.

Алгоритм проведення аналізу наступний:

- У флакони з калібрувальними пробами внести по 0,5 мл дистильованої води і перемішати по повного розчинення таблеток. В результаті отримуюмо розчини з наступними концентраціями РЕА: 0 нг/мл ( $C_0$ ), 5 нг/мл ( $C_1$ ), 15 нг/мл ( $C_2$ ), 45 нг/мл ( $C_3$ ), 120 нг/мл ( $C_4$ ), 360 нг/мл ( $C_5$ ).
- У флакон з контрольною сироваткою внести 0,5 мл дистильованої води і перемішати до повного розчинення таблетки.
- У флакон з антисироваткою до РЕА внести 11 мл дистильованої води і перемішати.
- У флакон з РЕА внести 11 мл дистильованої води і перемішати до повного розчинення таблетки. Преципітуючий реагент поставляється готовим до використання.
- Пробірки для аналізу маркують наступним чином: Т - загальна активність РЕА;
- $C_0, \dots, C_5$  - калібрувальні проби РЕА; Ск контрольна сироватка, Сх - досліджувані проби сироватки крові.
- У пробірки  $C_0, \dots, C_5$  внести по 0,1 мл розчину із флакона з відповідними калібрувальними пробами. У пробірки Ск внести по 0,1 мл розчину з флакона з

контрольною сироваткою. В пробірки Сх внести по 0,1 мл досліджуваної сироватки.

- У всі пробірки, крім Т, внести по 0,1 мл антисироватки до РЕА.
- У всі пробірки внести по 0,1 мл РЕА.
- Пробірки закрити пробками, змішати на віхревому змішувачі і інкубувати протягом 24 годин при кімнатній температурі.
- У всі пробірки, крім Т, внести по 0,1 мл преципітуючого реагента С, перемішати на віхревому змішувачі і інкубувати протягом 1,5 години при кімнатній температурі.
- Всі пробірки, крім Т, центрифугувати при 1500 – 2000 г протягом 15 хвилин.
- Після центрифугування видалити з пробірок надосадкову рідину з допомогою водоструйного насоса.
- Всі пробірки помістити в гамма – лічильник і визначити швидкість виміру І(125) в кожній пробірці протягом 1 хвилини.

Розрахунки і побудова калібрувального графіку:

1. Знайти середньо-арифметичне значення швидкості виміру І(125) для кожної пари пробірок.
2. Розрахувати значення  $100V_0/T$ , де  $V_0$  – середньо – арифметичне значення швидкості виміру в пробірках  $C_0$ ;  $T$  – загальна активність РЕА, виміряна середньо – арифметичним значенням швидкості виміру в пробірках  $T$ .
3. Розрахувати значення  $100V/V_0$  для кожної калібрувальної і досліджуваної

проби, де  $V$  – середнє арифметичне значення швидкості в пробірках  $C_1...C_5$ ,  $S_k$  і  $S_x$ .

4. Побудувати калібрувальну криву в напівлогарифмічних координатах, відкладаючи по осі ординат значення  $100V/V_0, \%$ , а по осі абсцис – значення концентрації РЕА, нг/мл у відповідних калібрувальних пробах.

Калібрувальний графік дає можливість визначити РЕА в межах 3-360 нг/мл. Коефіцієнт варіації результатів визначення ( $n=10$ ) концентрації РЕА в зразках не перевищує 8 %.

#### Результати досліджень та їх обговорення

Кількісне визначення раково – ембріонального антигену у сироватці крові виконували методом радіоімунологічного аналізу з допомогою стандартних наборів ріо – РЕА І(125) М. Кров брали з ліктьової вени всім хворим зранку натще до початку лікування. Радіометрію проводили на сцинтиляційному лічильнику “Гамма – 1”, дослідження проводили дуплетами.

В основу роботи покладені дані обстеження 50 хворих, які знаходились на амбулаторному і стаціонарному лікуванні в Ужгородському обласному онкологічному диспансері.

В залежності від характеру захворювання всі хворі поділені на групи: перша група - 23 хворі раком шлунку, друга група – 19 хворих раком товстого кишківника, третя група – 8 хворих з підозрою на злоякісне новоутворення. Хворі належать до різних вікових груп від 18 до 80 років. Розподіл хворих по віку і статі представлено в таблиці 1.

Розподіл обстежуваних хворих по статі і віку

Таблиця 1

Нозологічні форми	Кількість хворих		Стать				Вік, роки (Абс.к-сть)						
			чоловіча		жіноча		20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	>70	
	Абс. к-сть	%	Абс. к-сть	%	Абс. к-сть	%							
Рак шлунку	23	46	15	54	8	36	1	2	1	11	4	4	
Рак товстого кишківника	19	38	11	39	8	36	-	2	-	6	8	3	
Інші форми	8	16	2	7	6	28	-	-	1	3	3	1	
Всього	50	100	28	100	22	100	1	4	2	20	15	8	

Клінічні прояви при раку шлунку неспецифічні і найчастіше мають характер больового і диспептичного синдромів, що властиво для ураження верхнього відділу шлунково – кишкового тракту. Всім обстежуваним хворим проводили загально – клінічні і біохімічні обстеження крові, аналіз сечі.

У хворих на рак шлунку виявляються такі зміни загального аналізу крові – анемія, нейтрофільний лейкоцитоз, прискорене ШОЕ. При біохімічному обстеженні крові визначається гіпопротеїнемія в основному за рахунок альбумінів та гіпергамаглобулінемія. Велике значення для постановки діагнозу має виявлення крові у калі.

Проте клінічна симптоматика і дані лабораторних методів обстеження неспецифічні і нечутливі для визначення захворювання на ранній стадії. В уточненні діагнозу основну роль відіграють рентгенологічні і ендоскопічні методи діагностики.

Серед обстежених у 5 хворих з нераковими захворюваннями визначено середній рівень раково – ембріонального антигену у сироватці крові 3,7 нг/мл. У 40 хворих з раком шлунку і товстого кишківника концентрація маркера була – 20,6 нг/мл (табл.2).

Розподіл хворих раком шлунку по стадіях представлений у таблиці 3. Так як у хворих раком I і II стадіями різниці рівня маркера недостовірні, їх об'єднали у одну групу. Концентрація РЕА у сироватці цих хворих (середнє значення) – 9,8 нг/мл. У хворих III стадії рівень маркера майже у 3 рази перевищує норму (13,9 нг/мл), у хворих IV стадії – більше ніж у 5 разів (25,9 нг/мл).

Серед хворих раком шлунку розподіл обстежуваних залежно від рівня РЕА у сироватці представлений у таблиці 4. Видно, що у 50% хворих рівень маркера знаходиться в межах 7,5 – 12,5 нг/мл, у 5% - у межах 12,6 – 15 нг/мл. У 15% обстежених концентрація РЕА перевищує 20 нг/мл. З 5 хворих з нераковими хворобами у 3 (60%) концентрація РЕА не перевищувала 5 нг/мл, у 2 чоловік (40%) – знаходилась у межах 5,1 – 7,5 нг/мл.

Концентрація РЕА в сироватці крові

Таблиця 2

Нозологічна форма	Кількість хворих	Концентрація РЕА, нг/мл ( $\bar{X} \pm \delta$ )
Рак шлунку	21	16,4 $\pm$ 12,8
Рак товстого кишківника	9	26,1 $\pm$ 17,9
Рак прямої кишки	10	24,3 $\pm$ 17,5
Неракові хвороби	5	3,7 $\pm$ 2,1

Концентрація РЕА у хворих різними стадіями раку шлунку

Таблиця 3

Стадії раку шлунку	Число обстежених	Концентрація РЕА, нг/мл
I – II	5	9,8
III	10	13,9
IV	6	25,9

Розподіл обстежених в залежності від концентрації РЕА у сироватці крові

Таблиця 4

Обстежені	К-сть, (%)	Концентрація РЕА						
		0-2,5	2,6-5,0	5,1-7,5	7,5-10,0	10,1-12,5	12,6-15,0	>20,0
Рак шлунку	20	0	3 (15)	3 (15)	5 (25)	5 (25)	1 (5)	3 (15)
Неракові хвороби	5	2 (40)	1 (20)	2 (40)	0	0	0	0

Автор висловлює вдячність О.С.Бабенко, І.С.Лемку, О.І.Щадею за придбання тесту на РЕА та сприяння в проведенні радіоімунологічного аналізу.

антигену може послужити як додатковий метод діагностики у хворих раком шлунку.

#### Висновки

Таким чином, тест на РЕА є критерієм диференціальної діагностики раку шлунку з нераковими захворюваннями. Кореляція між рівнем маркера і ступенем поширення процесу дає додаткову інформацію для визначення стадії захворювання.

Зважаючи на великий розмах варіацій у кожній групі, визначення підвищеного рівня маркера не дає гарантії виявлення злоякісного процесу за допомогою теста. Проте використання тесту *in vitro* на визначення раково-ембріонального

#### Література

1. Байерман К. Определение следовых количеств органических веществ. - М.: Мир, 1987. - С.347-354.
2. Блохина Н.Г. Принципы ранней диагностики некоторых злокачественных опухолей // Терапевтический архив. - 1989. - Т.6, №10. - С.27.
3. Ткачева Г.А., Балаболкин М.И., Ларичева И.П. Радиоиммунологические методы исследования. М.: Медицина. - 1983. - 186с.
4. Чеботарева Е.Д., Шишкина В.В., Славнов В.Н. Радиоиммунологический анализ в онкологии. - К.: Здоровье, 1984. - 141с.

#### DEFINITION OF CANCER EMBRIOLOGICAL ANTIGEN BY METHODS OF RADIOIMMUNOLOGICAL ANALYSIS.

Loshak M.Y.

The activity is dedicated to research cancer stomach diagnosis with means of radioimmunological methods. The accent was made on definition of cancer embriological antigen (CEA) in 50 patients. It was shown that complex diagnostics was better with CEA to define stage of tumor and differentiale bening and malignant lesions.