

УДК 612.017.2:612.014.4

Использование маркеров атипичных клеток для оценки адаптационных возможностей организма

С. Б. Павлов, Н. М. Бабенко, М. В. Кумечко

Харьковская медицинская академия последиplomного образования МЗ Украины

Резюме

Введение. Для исследования функционального состояния организма в интервале между нормой и патологией необходимо определить показатели, характеризующие адаптационные возможности, и найти способ адекватной обработки этих показателей. Поэтому выбор маркера, отражающего нарушение процессов регуляции на молекулярном уровне, является определяющим.

Постановка задачи. При воздействии на организм повреждающих факторов включаются защитно-компенсаторные механизмы адаптации, в случае срыва которых создаются условия для перехода патологического процесса на более высокие уровни организации. Это способствует образованию веществ с новыми антигенными свойствами. Поэтому в качестве индикаторов адаптационных реакций могут быть использованы биомаркеры атипичных клеток.

Цель исследования. Изучение возможности использования биомаркеров атипичных клеток на примере раково-эмбрионального антигена (РЭА) в качестве критерия снижения резервов адаптации на молекулярном и клеточном уровнях.

Результаты исследования. Была оценена вероятность срывов компенсаторных механизмов на молекулярном и клеточном уровнях, приводящих к снижению функциональных резервов. Предложен способ получения количественной оценки адаптационных возможностей организма.

Выводы. Предложенная модель количественной оценки адаптационных возможностей организма с помощью биомаркеров атипичных клеток может быть использована для оценки снижения резервов адаптации на молекулярном и клеточном уровнях в любой группе.

Ключевые слова: маркеры атипичных клеток; адаптационные возможности; компенсаторные механизмы; функциональные резервы.

Клин. информат. и Телемед. 2014. Т.10. Вып.11. сс.89–94

Введение

Функциональное состояние организма в интервале между нормой и патологией определяет риск возникновения и развития болезни. В связи с этим уровень здоровья может рассматриваться как показатель адаптационных возможностей организма [2]. Для реализации этого подхода необходимо определить показатели, характеризующие адаптационные возможности, и найти способ адекватной обработки этих показателей. Обычно такие показатели имеют высокую биологическую вариабельность и излишнюю специфичность, и отражают результат действия регулирующих систем организма на многих уровнях биологической организации. Это приводит к необходимости создавать комплексные показатели и использовать сложные математические методы, физиологическая значимость которых не всегда объяснима.

В связи с этим, выбор маркера, отражающего нарушение процессов регуляции на базовом молекулярном уровне, является определяющим. А минимизация анализируемых показателей дает возможность использовать простые и наглядные методы оценки уровня здоровья в группах или популяции в целом.

При воздействии на организм повреждающих факторов могут происходить как специфические, так и неспецифические изменения. Неспецифические изменения – это молекулярные нарушения, отражающие развитие патологического процесса на самых ранних стадиях и обнаруживающиеся задолго до тех или иных клинических проявлений [5]. Эти нарушения зависят от реактивности организма и определяют его адаптационную

реакцию [4]. Одновременно с повреждением включаются и защитно-компенсаторные процессы. В случае срыва компенсаторных механизмов адаптации, на молекулярном уровне организации создаются условия для перехода патологического процесса на более высокие уровни (субклеточный, клеточный, тканевой, органный), что способствуют образованию веществ с новыми антигенными свойствами [3]. Появление атипичных клеток, которые являются следствием нарушений защитно-компенсаторных механизмов на молекулярном уровне, может привести к развитию заболеваний любой природы. Поэтому показатель снижения адаптационных возможностей должен отражать изменения на молекулярном (субклеточном) уровне и фиксироваться с достаточной статистической достоверностью. Этим требованиям в значительной степени отвечают биомаркеры атипичных клеток, которые изменяются до развития болезни, и могут быть использованы в качестве индикаторов адаптационных реакций [9].

В работе в качестве маркера атипичных клеток используется раково-эмбриональный антиген (РЭА). РЭА является опухолевоэмбриональным антигеном, который вырабатывается в тканях пищеварительного тракта эмбриона и плода и определяется в сыворотке крови плода. После рождения ребенка синтез его подавляется, поэтому в сыворотке здоровых взрослых людей он практически не обнаруживается, равно как и в других биологических жидкостях [11]. Попытки использования РЭА как маркера онкопатологии не принесли ожидаемых результатов. Этот антиген не является абсолютным тестом на наличие или отсутствие злокачественной опухоли [8]. Лишь в некоторых случаях его используют для мониторинга течения

и эффективности лечения заболеваний толстого кишечника, молочной железы, легких [7]. В очень малых количествах раково-эмбриональный антиген обнаруживается в ткани кишечника, поджелудочной железы и печени здоровых взрослых людей. 97% практически здоровых некурящих имеют значения РЭА в сыворотке крови ниже 2,5 нг/мл. На уровень антигена влияют курение, употребление алкоголя. Верхняя граница нормы для здоровых курильщиков – 9,19–14,9 нг/мл [10], для онкологических больных характерны высокие уровни РЭА.

Цель исследования. Изучение возможности использования биомаркеров атипичных клеток на примере РЭА в качестве критерия снижения резервов адаптации на молекулярном и клеточном уровнях.

В работе предложена модель, в которой уровень РЭА предлагается в качестве маркера нарушений защитно-компенсаторных механизмов на молекулярном уровне при воздействии повреждающего фактора. В качестве повреждающего фактора рассматривается низкоинтенсивное излучение, поскольку воздействие малых доз радиации приводит к росту степени напряжения регуляторных систем и к снижению функциональных резервов [1].

Материалы и методы исследования

Исследования проводились в трех группах, каждая из которых состояла из 50 человек. Сопоставимость групп обеспечивалась следующими критериями: пол, возраст, социальное положение. Первая группа представлена практически здоровыми людьми. Отбор в группу проводился случайным образом из пациентов, прошедших медицинский осмотр и тщательное клиническое обследование, исключая такие факторы как онкозаболевания, хронические заболевания, курение. Вторая группа представлена больными с клинически выверенными онкозаболеваниями желудочно-кишечного тракта на ранних стадиях. В нашей модели первая и вторая

группы представляют собой крайние состояния здоровья и болезни, т. е. состояния с достаточным адаптационным резервом и срывом адаптации.

Для оценки состояния «предболезни», которое характеризуется снижением функциональных резервов организма, была сформирована третья группа. Третья группа представлена практически здоровыми людьми, которые подвергались воздействию повреждающего фактора – низкоинтенсивного излучения, полученного на производстве, представляющем потенциальную радиационную опасность. Критерии включения в третью группу были аналогичны критериям включения в первую группу (практически здоровые).

Для количественной оценки снижения адаптационных возможностей путем математического моделирования была создана условная группа, состоящая из представителей группы 1 (практически здоровые) и группы 2 (больными с онкозаболеваниями).

Уровень РЭА определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием оборудования и реактивов «Hoffmann-La Roche» (Швейцария). Математическую обработку данных осуществляли с помощью Excel.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты представлены в виде гистограммы распределения концентрации раково-эмбрионального антигена в сыворотке крови практически здоровых лиц – группа 1, больных с онкозаболеваниями – группа 2, практически здоровых лиц, подвергавшихся длительному воздействию малых доз радиации, – группа 3 (рис. 1).

Как видно из рисунка, 93% практически здоровых лиц (группа 1) имеют значения РЭА ниже 2,5 нг/мл, около 6% – имеют значения в диапазоне 2,6–5 нг/мл. Значения больше 5 нг/мл в данной группе практически не встречаются. Для больных группы 2 характерны высокие значения РЭА. Около 17% больных имеют значения более 20 нг/мл, около 6% –

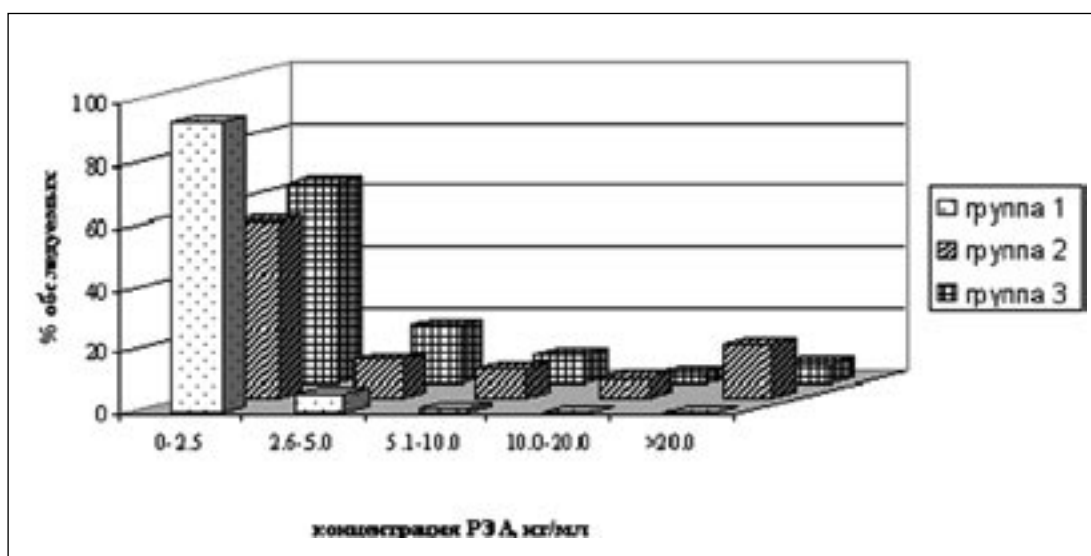


Рис. 1. Распределение концентрации РЭА в исследуемых группах.

По горизонтальной оси отложены значения РЭА в диапазонах 0–2,5 нг/мл; 2,6–5 нг/мл; 5,1–10 нг/мл; 10–20 нг/мл; более 20 нг/мл. По вертикальной оси – количество исследуемых в каждой группе, имеющих соответствующее содержание РЭА в процентах от общей численности группы.

10–20 нг/мл, около 10% – 5,1–10 нг/мл. Соответственно, низкие значения – менее 2,5 нг/мл – только у 56% больных.

Для группы 1 количество значений в подгруппах резко убывает с ростом уровня РЭА, и становится очень малым (1%) для уровней 5,1–10 нг/мл, и нулевым при больших значениях. Для группы 2 также наблюдается убывание, но менее резкое. Кроме того, при уровне РЭА больше 20 нг/мл наблюдается значительный подъем количества исследуемых в процентном соотношении. Характерные различия для этих групп можно наблюдать в диапазонах 0–2,5 и выше 20 нг/мл. Для группы 3 функция распределения маркера носит промежуточный характер между функциями распределения двух рассмотренных выше групп, состоящих из лиц практически здоровых и больных. Так как группы 1 и 3 отличаются лишь действием повреждающего фактора, можно предположить, что отличие функций распределения маркера обусловлено длительным воздействием низкоинтенсивного излучения на лиц третьей группы.

Полученные результаты, с учетом действующих факторов и клинических исследований, позволяют предположить, что наблюдаемые нами изменения распределения маркера могут быть обусловлены снижением физиологических резервов на молекулярном уровне в результате воздействия повреждающего фактора, что фактически отражает результат снижения адаптационных возможностей организма.

Для количественной оценки изменения адаптационных возможностей организма оценивать различия средних значений в группах не имеет смысла, поскольку разбалансировка регуляторных механизмов в процессе дезадаптации приводит к дестабилизации системы, а, следовательно, к росту дисперсии. Причем наблюдаемый резкий рост значений показателей лишь у отдельных лиц приводит к тому, что функция распределения значительно отличается от нормального распределения, и параметрические методы оказываются неприменимы. А непараметрические методы анализа различий в группах – недостаточно чувствительны. К тому же они не отражают физиологического смысла происходящего, заключающегося в том, что срыв адаптации происходит только у тех лиц, адаптационные резервы которых оказались исчерпаны. При этом значения исследуемых показателей уходят из зоны физиологической нормы, образуя «зону дезадаптации». По мере увеличения мощности повреждающего фактора, количество лиц с такими показателями в группе растет. У остальных лиц, значения показателей остаются практически в пределах физиологической нормы (физиологической вариации).

С точки зрения физиологического смысла необходимо сравнивать распределения в группах, оценивая переходы значений показателей из зоны физиологической вариации в зону дезадаптации. В связи с этим изменение адаптационных возможностей организма оценивали с помощью критерия, в котором были исследованы распределения в группе практически здоровых (распределение при физиологической норме) и в группе больных лиц (распределение при дезадаптации) [6].

Группу 3 (практически здоровые, подвергавшиеся воздействию неблагоприятного фактора) сравнивали с условной группой, состоящей из представителей группы 1 (практически здоровые) и 2 (больные), взятых в различных пропорциях (с различными весовыми коэффициентами). Для этого путем сложения двух кривых, соответствующих кривым распределения группы 1 и группы 2, получали кривую распределения условной группы. Сложение производили по следующей формуле:

$$(a_1k + b_1(100 - k))/100 = n_1,$$

где k – весовой коэффициент (выбирали в диапазоне от 0 до 100% с интервалом в 10 %);

a_1, b_1 – точки на соответствующих кривых распределения группы 1 и группы 2;

n_1 – точка на смоделированной кривой.

В результате сложения получали множество кривых. Каждая кривая представляла собой кривую распределения условной группы, состоящей из здоровых людей и соответствующего числа больных, взятых в различных пропорциях. Из множества кривых выбирали ту, которая наиболее соответствовала кривой распределения группы 3. Это соответствие определяли по формуле:

$$\sum((n_1 - m_1)^2 / (n_1 + m_1)) = \alpha,$$

где m_1 – точка на кривой распределения группы 3;

α – относительное квадратичное отклонение (вариация).

На рис. 2 представлены значения этого параметра для множества кривых условной группы, в которых количество здоровых и больных лиц взято в пропорциях от 0 до 100%.

Далее определяли значения весового коэффициента k , при котором α принимает минимальное значение, что соответствует лучшему совпадению условной кривой и кривой распределения группы 3. Как видно из рисунка, монотонная кривая имеет единственный минимум при значении по оси

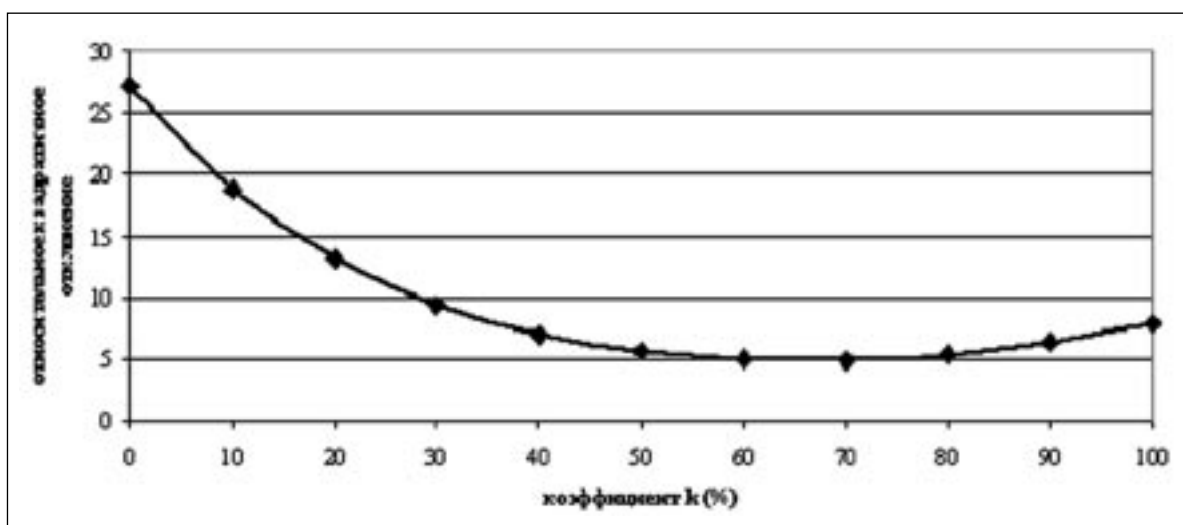


Рис. 2. Значения относительных квадратичных отклонений в диапазоне 0–100%.

Табл. 1. Значения относительных квадратичных отклонений в диапазоне 60–70% с интервалом 1%.

k (%)	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
α	4,9	4,83	4,81	4,79	4,776	4,773	4,7651	4,77	4,78	4,8	4,82

абсцисс в диапазоне 60–70%. Для получения более точной оценки рассчитывали относительные квадратичные отклонения α в этом диапазоне с интервалом 1%. Данные расчетов приведены в табл. 1.

Минимальное значение α соответствует значению k 66%. Это означает, что кривая распределения группы З наиболее близка к кривой распределения условной группы, состоящей из 66% здоровых и 34% больных. Полученное соотношение весовых коэффициентов условной группы (практически здоровых и больных лиц) может использоваться в качестве критерия для количественной оценки снижения адаптационных возможностей организма в группе З. Чем больше доля больных, тем сильнее снижены физиологические резервы.

Исследования проводились с соблюдением национальных норм биоэтики и положений Хельсинкской декларации (в редакции 2013 г.) с письменного согласия обследуемых, после подробного информирования о целях, продолжительность и процедуре исследования.

Авторы статьи — С. Б. Павлов, Н. М. Бабенко, М. В. Кумечко — подтверждают, что у них нет конфликта интересов.

Выводы

В работе уровень ракового эмбрионального антигена и низкоинтенсивное излучение были рассмотрены в качестве примера. Данная модель количественной оценки адаптационных возможностей организма с помощью биомаркеров атипичных клеток может быть использована для оценки снижения резервов адаптации на молекулярном и клеточном уровнях в любой группе.

Литература

1. Василенко И. Я. Радиологические проблемы малых доз радиации. *Военно-медицинский журнал*, 1993, № 4, сс. 28–32.
2. Дмитриева Н. В., Глазачев О. С. Индивидуальное здоровье и полипараметрическая диагностика функционального состояния человека. М., *Горизонт*, 2000, 214 с.
3. Долгих В. Т. Общая патофизиология (лекции для студентов и врачей). Н. Новгород, *НГМА*, 1997, 108 с.
4. Кузьменко Т. С. Повышение эффективности лечения с помощью алгоритмов, разработанных на основе теории адаптационных реакций. М., 2003, 33 с.
5. Павлов С. Б., Попсуйшапка А. К., Павлова Г. Б. Возможности использования маркеров соединительной ткани для оценки состояния здоровья населения. *Международный медицинский журнал*, 2005, № 1, сс. 124–128.
6. Павлов С. Б., Матюша Л. В. и др. Способ оценки экологического риска в популяции *Патент № 47750*, Украина. МПК G01N33/48. Заявл. 04.09.2001; Опубл. 15.07.2002, Бюл. № 7.
7. Fathi E., Mesbah-Namin S. A., Farahzadi R. Biomarkers in Medicine: An Overview. *British Journal of Medicine & Medical Research*, 2014, vol. 4, iss. 8, pp. 1701–1718.
8. Fletcher R. H. Carcinoembryonic antigen. *Ann. Intern. Med.*, 1986, vol. 104, no. 1, pp. 66–73.
9. Policy issues for the development and use of biomarkers in health. *OECD*, 2011, p. 45.
10. Sajid K. M., Parveen R., Sabih D., et al. Carcinoembryonic antigen (CEA) levels in hookah smokers, cigarette smokers and non-smokers. *J. Pak. Med. Assoc.*, 2007, vol. 57, no. 12, pp. 595–599.
11. Scorialasa A., Chianga P.M., Katsarosc D. et al. Molecular characterization of a new gene, CEAL1, encoding for a carcinoembryonic antigen-like protein with a highly conserved domain of eukaryotic translation initiation factors. *Gene*, 2003. vol. 310, pp. 79–89.

Використання маркерів атипових клітин для оцінки адаптаційних можливостей організму

С. Б. Павлов, Н. М. Бабенко, М. В. Кумечко
Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

Резюме

Введення. Для дослідження функціонального стану організму в інтервалі між нормою і патологією необхідно визначити показники, що характеризують адаптаційні можливості, і знайти спосіб адекватної обробки цих показників. Тому вибір маркера, що відображає порушення процесів регуляції на молекулярному рівні, є визначальним.

Постановка завдання. При впливі на організм пошкоджуючих факторів включаються захисно-компенсаторні механізми адаптації, у разі зриву яких створюються умови для переходу патологічного процесу на більш високі рівні організації. Це сприяє утворенню речовин з новими антигенними властивостями. Тому в якості індикаторів адаптаційних реакцій можуть бути використані біомаркери атипових клітин.

Мета дослідження. Вивчення можливості використання біомаркерів атипових клітин на прикладі раково-ембріонального антигену (РЕА) в якості критерію зниження резервів адаптації на молекулярному та клітинному рівнях.

Результати дослідження. Була оцінена ймовірність зривів компенсаторних механізмів на молекулярному та клітинному рівнях, що призводять до зниження функціональних резервів. Запропоновано спосіб отримання кількісної оцінки адаптаційних можливостей організму.

Висновки. Запропонована модель кількісної оцінки адаптаційних можливостей організму за допомогою біомаркерів атипових клітин може бути використана для оцінки зниження резервів адаптації на молекулярному та клітинному рівнях у будь-якій групі.

Ключові слова: маркери атипових клітин; адаптаційні можливості; компенсаторні механізми; функціональні резерви.

Using markers of atypical cells for evaluating adaptive capabilities

S. B. Pavlov, N. M. Babenko, M. V. Kumechko
Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health of Ukraine
e-mail: psb@ua.fm

Abstract

Introduction. To investigate the functional state of the organism in the range between normality and pathology is necessary to determine the parameters describing adaptive capabilities, and find a way to adequately handle these indicators. Therefore, the selection of marker, reflecting a violation of regulation processes at the molecular level is crucial.

Formulation of the problem. When exposed to the body of damaging factors include protective-compensatory mechanisms of adaptation, in case of failure of which, are created the conditions for the transition of the pathological process on the higher levels of the organization. This promotes the formation of substances with new antigenic properties. Therefore, as indicators of adaptive responses may be used biomarkers of atypical cells.

The object of the study is to explore the use of biomarkers of atypical cells on the example of carcinoembryonic antigen (CEA) as a criterion for reducing adaptation reserves at the molecular and cellular levels.

Study results. Was estimated probability of failure of compensatory mechanisms at the molecular and cellular levels, leading to a decrease in functional reserves. The method of quantifying estimation adaptive capacity of the organism has been proposed.

Conclusions. The proposed model of quantifying estimation adaptive capacity of the organism using biomarkers of atypical cells can be used to estimate the decrease of reserves adaptation at the molecular and cellular levels in any group.

Key words: Markers of atypical cells; Adaptive capabilities; Compensatory mechanisms; Functional reserves.

©2014 Institute Medical Informatics and Telemedicine Ltd, ©2014 Ukrainian Association of Computer Medicine. Published by Institute of Medical Informatics and Telemedicine Ltd. All rights reserved.

ISSN 1812-7231 *Klin.inform.telemed.* Volume 10, Issue 11, 2014, Pages 89–94
<http://uacm.kharkov.ua/eng/index.shtml?e-klininfo-ujournal.htm>

References (11)

Reference

1. Vasilenko I. J. Radiological problems of small doses of radiation. *Voenno-meditsinskiy zhurnal* [Military Medical Journal], 1993, no. 4, pp. 28–32. (In Russ.).
2. Dmitrieva N. V., Glazachev O. S. *Individualnoe zdorov'e i poli-parametricheskaya diagnostika funktsionalnogo sostoyaniya cheloveka* [Individual health and polyparametric diagnostics of human functional state.] M., Gorizont Publ., 2000, 214 p. (In Russ.).
3. Dolgikh V.T. *Obschaya patofiziologiya (leksii dlya studentov vrachey)* [General pathophysiology (lectures for students and doctors)]. Nizhny Novgorod, NGMA Publ., 1997, 108 p. (In Russ.).
4. Kuz'menko T. S. *Povyshenie effektivnosti lecheniya ting pomoschyu algoritmov, razrabotannyh na osnove teorii adaptatsionnyh reaktsiy* [Improving the efficiency of treatment with algorithms developed based on the theory of adaptive reactions]. M., 2003, 33 p. (In Russ.).
5. Pavlov S. B., Popsuyshapka A. K., Pavlov G. B. The possibility of using connective tissue markers to assess the health of the population. *Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal* [International Medical J.], 2005, no. 1, pp. 124–128. (In Russ.).
6. Pavlov S. B., Matyusha L. V. etc. *Sposob otsenki ekologicheskogo riska v populyatsii* [The method of ecological risk assessment in the population]. *Patent Ukr. no. 47750, MPK G01N33/48. 04.09.2001; Publ. 15.07.2002, Bull. no. 7.* (In Russ.).
7. Fathi E., Mesbah-Namin S.A.; Farahzadi R. Biomarkers in Medicine: An Overview. *British Journal of Medicine & Medical Research*, 2014, vol. 4, iss. 8, pp. 1701–1718.
8. Fletcher R. H. Carcinoembryonic antigen. *Ann. Intern. Med.*, 1986, vol. 104, no. 1, pp. 66–73.
9. Policy issues for the development and use of biomarkers in health. *OECD*, 2011, p. 45.
10. Sajid K. M., Parveen R., Sabih D., et al. Carcinoembryonic antigen (CEA) levels in hookah smokers, cigarette smokers and non-smokers. *J. Pak. Med. Assoc.*, 2007, vol. 57, no. 12, pp. 595–599.
11. Scorilasa A., Chianga P.M., Katsarosc D. et al. Molecular characterization of a new gene, CEAL1, encoding for a carcinoembryonic antigen-like protein with a highly conserved domain of eukaryotic translation initiation factors. *Gene*, 2003. vol. 310, pp. 79–89.

Переписка

к.биол.н., зав. лаб., **С. Б. Павлов**
ХМАПО, ЦНИЛ
ул. Корчагинцев, 58
Харьков, 61176, Украина
тел.: +380 (57) 711 80 45
+380 (57) 711 80 48
эл. почта: psb@ua.fm