

ОВАРИАЛЕН КАРЦИНОМ – РОЛЯТА НА ПРОТЕИНОВИ БИОМАРКЕРИ В ПРЕОПЕРАТИВНАТА ДИФЕРЕНЦИАЛНА ДИАГНОЗА

В. Рачева^{1,2}

¹Клинична лаборатория, УМБАЛ „Света Марина“ – Плевен

²Медицински университет – Плевен

OVARIAN CARCINOMA: THE ROLE OF PROTEIN BIOMARKERS IN PREOPERATIVE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS

V. Racheva^{1,2}

¹Clinical Laboratory, University Multiprofile Hospital for Active Treatment "Sveta Marina" – Pleven

²Medical University – Pleven

Резюме. Клинично предизвикателство е да се идентифицира кои жени с овариален тумор са изложени на риск от злокачествено заболяване. По-голямата част от овариалните тумори са доброкачествени и могат да причинят проблеми поради своя размер, близост до различни органи и болка или дискомфорт. Останалата част от тях са злокачествени и тяхното навременно диагностициране е от огромно значение за подобряване на преживяемостта на пациентките. Днес златен стандарт за диференцирането на доброкачествените от злокачествените овариални тумори е хистопатологичната биопсия. Тя е инвазивен метод и получаването на резултат от нея изисква продължително време. Предоперативното изследване на туморни маркери, както и ултразвуковите характеристики при трансвагинална ултрасонография, са често използвани за разграничаване на доброкачествени от злокачествени тумори на яйчника. В клиничната практика серумният маркер СА125 е ценен показател, но се характеризира с ниска специфичност – повишени стойности се наблюдават и при доброкачествени състояния като ендометриоза и възпалителни заболявания. През последните години се търсят допълнителни биомаркери, които в комбинация с СА125, да повишат диагностичната точност. Сред тях внимание заслужават серумните белтъци транстиретин (prealbumin), трансферин, аполипопротеин-А1 и β_2 -микроглобулин.

Ключови думи: транстиретин, трансферин, аполипопротеин-А1, β_2 -микроглобулин, СА125, овариален карцином

Адрес за кореспонденция: Д-р Валерия Рачева, e-mail: v_ra4eva22@abv.bg

Abstract. It is a clinical challenge to identify which women with ovarian tumors are at risk of developing malignancy. The majority of ovarian tumors are benign and can cause problems due to their size, proximity to various organs, and pain or discomfort. The remainder are malignant, and their timely diagnosis is of great importance for improving patient survival. Today, the gold standard for differentiating benign from malignant ovarian tumors is histopathological biopsy. It is an invasive method and obtaining a result from it requires a long period of time. Preoperative examination of tumor markers, as well as ultrasound features during transvaginal ultrasonography, are often used to distinguish between benign and malignant ovarian tumors. In clinical practice, the serum marker CA125 is a valuable indicator, but is characterized by low specificity – elevated values are also observed in benign conditions such as endometriosis and inflammatory diseases. In recent years, additional biomarkers have been sought that, in combination with CA125, could increase diagnostic accuracy. Among them, the serum proteins transthyretin (prealbumin), transferrin, apolipoprotein A1, and β_2 -microglobulin deserve attention.

Key words: transthyretin, transferrin, apolipoprotein A1, β_2 -microglobulin, CA 125, ovarian carcinoma

Address for correspondence: Valeriya Racheva, MD, e-mail: v_ra4eva22@abv.bg

ВЪВЕДЕНИЕ

Овариалният карцином (ОК) е обществено значима болест, засягаща жени от всички възрастови групи, като в голям брой от случаите се диагностицира в късен стадий, когато лечението е твърде скъпо и сложно, а терапевтичните резултати са незадоволителни. Късното диагностициране и лошите лечебни резултати при ОК са проблем в световен мащаб [7].

Ежегодно в света се диагностицират повече от 200 хил. случая на ОК [8].

Според данни на Международната агенция за изследване на рака (IARC) GLOBOCAN от 2022 г., ОК е на 8-о място по честота сред жените в света – 6.7 на 100 000 жени, и на 5-о като причина за смъртност – 4.0 на 100 000 жени. Европа е сред регионите с най-висок брой нови случаи на болестта в света. Най-висока честота на заболяването се наблюдава в страните от Източна и Северна Европа, а най-ниска в южноевропейските държави. Според данни на Европейска информационна система за рака (ECIS) за 2022 г. у нас кар-

циномът на яйчника заема 6-о място по честота сред жените – 16.7 на 100 хил. жени (относителен дял – 4.6%) и 5-о място като причина за смъртност 10.9 на 100 хил. жени (относителен дял – 5.7%).

Епидемиологичните данни определят социалната значимост на онкологичните заболявания и към тяхната диагноза, профилактика и терапия е насочен голям ресурс от всички клинични и диагностични специалности. В онкологичната практика се разработват клинични ръководства на различни консенсусни групи, повечето от които включват препоръки за избора на подходящ туморен маркер [9].

Туморните маркери не са повишени при всички пациенти с карцином, особено в ранния стадий на развитие на неопластичния процес. Полезността на туморния маркер е в неговата чувствителност и специфичност [10]. За да бъде идеален даден туморен маркер, трябва да се произвежда единствено от туморната маса, да се открива само при наличие на тумор, да се отделя в телесните течности в количества, достъпни за измерване. Неговата концентрация трябва да корелира с туморния обем, да се влияе от терапевтичния отговор и да служи за оценка на прогресията на туморния процес. Не на последно място той трябва да е откриваем още при *carcinoma in situ*, т.е. да е подходящ за скрининг. За съжаление, такъв маркер все още не е открит и валидиран от лабораторната медицина [6].

Много изследователи са се опитали, използвайки серумни биомаркери, да съставят диагностични модели за диагностициране на карцинома на яйчниците, за да подобрят неговото откриване. Също така предоперативната оценка на прогностични фактори при пациенти в ранен стадий на заболяването е необходима за персонализирано хирургично лечение [11].

Целта на нашето изследване е да се оцени възможността на серумните концентрации на определени белтъци да послужат като показатели за предоперативно разграничаване на овариалния карцином от доброкачествените овариални тумори. Възможно ли е при наличие на овариален тумор, установен след гинекологичен преглед, определянето на нивата на транстиретин (prealbumin), трансферин (TFR), аполипопротеин А1 (ApoA1), β_2 -микроглобулин (β_2 MG) и СА125 да подпомогне за предоперативната диференциална диагноза между злокачествени и доброкачествени процеси.

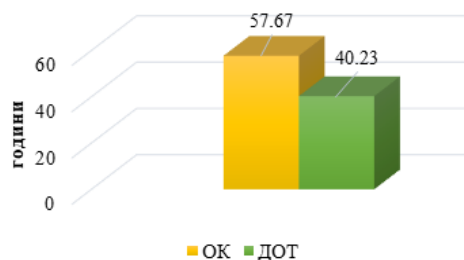
МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В настоящото проучване взеха участие 120 жени, хоспитализирани в Гинекологична клиника на УМБАЛ „Света Марина“ – Плевен, в периода от януари до ноември 2020 г. по повод диагностициран овариален тумор при гинекологичен преглед и TVUS. След извършената оперативна интервен-

ция и направената хистопатологична биопсия е поставена и окончателната диагноза, което доведе до оформянето на две групи.

- ОК – жени с доказан хистологично овариален карцином (n = 60), на средна възраст 57.67 г.

- ДОТ (доброкачествени овариални тумори) – жени с доказани хистологично доброкачествени овариални тумори (n = 60), на средна възраст 40.23 г. (фиг. 1).



Фиг. 1. Разпределение на работните групи – ОК и ДОТ по възраст

Критериите за включване на пациентите в това проучване са: жени над 18 год., с доказан овариален тумор и липса на анамнеза за злокачествено заболяване през последните 5 год.

Предоперативно взехме венозна кръв на всички пациентки във вакуум епруветки с гел-сепаратор. Центрофугирахме кръвта на 3500 g за 15 min. Отделеният серум прехвърлихме в транспортни епруветки тип Eppendorf и обозначихме с ID номер. Серумът съхранихме на -20° C до извършване на анализите.

Всички измервания на 5-те протеина са извършени в Клиничната лаборатория на УМБАЛ „Света Марина“ – Плевен. Определянето на транстиретин, трансферин, ApoA1, β_2 MG беше извършено на автоматичен биохимичен анализатор Beckman Coulter AU480 чрез имунотурбидиметричен метод. СА 125 беше измерен с автоматичен имунологичен анализатор Tosoh AIA 360 чрез флуоресцентен имуноензимен анализ.

Използвахме статистически методи, съобразени с характера на разглежданите процеси и естеството на данните за тях. Данните от проучването са въведени и обработени с помощта на IBM SPSS Statistics 19.0 и EXCEL for Windows. Отхвърлянето на нулевата хипотеза бе прието при ниво на значимост $p < 0.05$.

РЕЗУЛТАТИ

Изчислихме необходимите показатели и установихме статистически значими различия по отношение на 5-те изследвани биомаркера в двете изследвани групи, тъй като нивото на значимост $p < 0.05$ (табл. 1).

Разпределихме жените с ОК и с ДОТ според техния менопаузален статус, за да оценим неговата роля върху промените, настъпващи в концентрациите на петте протеина в двете изследвани групи (фиг. 2 и 3).

При жените с ОК установихме наличие на статистически значими различия в TFR и β_2 MG ($p < 0.05$). При останалите 3 протеина – prealbumin, ApoA1 и CA125, не констатирахме статистически значими различия ($p > 0.05$) (табл. 2).

Таблица 1. Ниво на статистическа значимост за петте протеина в двете групи

Протеини	ОК	ДОТ	Mann-Whitney U	z	p
Prealbumin	0.18	0.24	981.5	- 4.293	0.000
TFR	2.15	2.70	1044	- 3.965	0.000
ApoA1	1.69	1.84	1202.5	- 3.133	0.0017
CA125	640.70	45.43	404	7.324	0.000
β_2 MG	2.85	1.49	741.5	5.553	0.000



Фигура 2. Разпределение на жените с ОК според менопаузалния статус



Фигура 3. Разпределение на жените с ДОТ според менопаузалния статус

Таблица 2. Ниво на статистическа значимост за петте протеина според менопаузалния статус в група ОК

Протеини	мено-пауза	премено-пауза	Mann-Whitney U	Ниво на значимост p
Prealbumin	0.17	0.19	316.5	0.194
TFR	1.99	2.46	247.5	0.017
ApoA1	1.66	1.74	342.5	0.373
CA125	719.69	482.72	297.5	0.110
β_2 MG	3.27	2.02	221	0.005

При жените с ДОТ, установихме наличие на статистически значими различия в β_2 MG и CA125

($p < 0.05$). При останалите 3 протеина – prealbumin, ApoA1 и TFR, не бяха констатирани статистически значими различия ($p > 0.05$) (табл. 3).

Определихме диагностичната чувствителност (Sn) и диагностичната специфичност (Sp) на всеки един протеин за разграничаване на ОК от ДОТ чрез ROC анализ и определихме cut off стойности.

От табл. 5 е видно, че нивата на значимост p на 5-те протеина са 0.05, а AUC коефициентите за всички протеини са високи и надхвърлят 0.666. Праговете им значения определят добра диагностична Sn и Sp (табл. 4).

Таблица 3. Ниво на статистическа значимост за петте протеина според менопаузалния статус в група ДОТ.

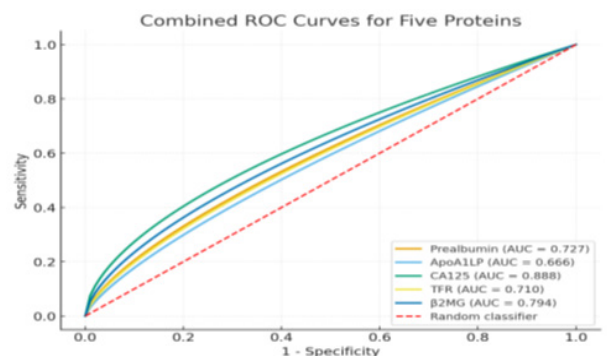
Протеини	мено-пауза	премено-пауза	Mann-Whitney U	p
Prealbumin	0.25	0.23	316.5	0.246
TFR	2.46	2.76	247.5	0.064
ApoA1	1.84	1.83	342.5	0.936
CA125	42.96	46.26	297.5	0.009
β_2 MG	1.94	1.35	221	0.029

Таблица 4. Прагови величини на изследваните количествени показатели за разграничаване на ОК и стойности на критериите за валидиране на скрининг тестове.

Показател	Cut off	Sn(%)	Sp(%)	PPV(%)	NPV(%)
CA125	≥ 99.05 IU/mL	81.7	90	89	83
Prealbumin	≤ 0.205 g/L	73.3	66.7	71.4	68.8
TFR	≤ 2.37 g/L	78.3	61.7	74	67.1
ApoA1	≤ 1.615 g/L	86.7	45	77.1	61.2
β_2 MG	≥ 1.295 mg/L	85	70	74	82.4

Таблица 5. AUC (Area Under the Curve) – коефициенти по отношение на наличие на ОК.

Тест	AUC	Стандартна грешка	Ниво на значимост p	95% ДИ	
				Долна гр.	Горна гр.
Prealbumin	0.727	0.047	0.000	0.635	0.820
ApoA1	0.666	0.050	0.002	0.568	0.764
CA125	0.888	0.034	0.000	0.822	0.954
TFR	0.710	0.047	0.000	0.617	0.803
β_2 MG	0.794	0.041	0.000	0.713	0.875



Фиг. 4. ROC криви за петте протеина при разграничаването на ОК и ДОТ

ОБСЪЖДАНЕ

Разграничаването на доброкачествените от злокачествените тумори на яйчниците има най-голяма роля за успешното лечение на овариалните тумори.

ОК е осмият най-разпространен рак при жените в световен мащаб, нареждащ се на 3-то място сред гинекологичните злокачествени заболявания, след рак на шийката на матката и рак на матката [12].

Поради високата си смъртност, ракът на яйчника заема 5-ата водеща причина за смъртни случаи, свързани с рак в световен мащаб [13].

Липсата на специфични симптоми и ефективни скринингови програми за откриване на заболяването в ранен стадий са причина за високата смъртност и за факта, че почти 70% от пациентите са диагностицирани при напреднало заболяване (стадий III или IV) и тяхната 5-годишна преживяемост е > 30% [14].

Ранното откриване на ОК е отдавна търсена цел и предизвикателство. Сравнявайки възрастовото разпределение на двата вида овариални тумори (ОК и ДОТ) в нашата извадка пациенти, можем да направим следния извод: ОК преобладава във възрастовия диапазон 51-70 год., докато ДОТ са по-чести във възрастов диапазон 31-50 год.

Установихме статистически значими различия в концентрациите на 5-те протеина в двете изследвани групи пациенти. Доказахме, че стойностите на преалбумин, TFR, и АроА1 са значително по-ниски при жените с ОК, отколкото при тези с ДОТ. СА125 и β_2 MG са със значително по-високи концентрации в групата на пациентките с ОК, в сравнение с ДОТ.

Сравнявайки средните стойности на 5-те протеина при менопаузалните жени с ОК (n = 40) и жените с ОК в пременопауза (n = 20), констатирахме наличие на статистически значими различия в TFR и β_2 MG (p < 0.05). При останалите 3 протеина – преалбумин, АроА1 и СА125 не намерихме статистически значими различия (p > 0.05) и можем да заключим, че менопаузалният статус при жените с ОК е значим фактор, свързан в най-голяма степен с промените в концентрациите на TFR и β_2 MG. Сравнявайки средните стойности на 5-те протеина в групата на жените в менопауза с ДОТ (n = 15) и пременопаузалните пациентки с ДОТ (n = 45), установихме наличие на статистически значими различия при β_2 MG и СА125 (p < 0.05). При останалите три протеина – TTR, АроА1 и TFR, не се констатираха сигнификантни различия (p > 0.05). Можем да заключим, че менопаузалният статус при жените с ДОТ е значим фактор, свързан в най-голяма степен с промените в концентрациите на β_2 MG и СА125.

Според данни от направени проучвания при прилагане на cut off стойност за СА125 от 35 IU/m,

неговата чувствителност за разграничаване на доброкачествени и злокачествени образувания варира от 61 до 90%, докато специфичността му е в диапазона от 35 до 91%. Положителната прогностична стойност варира между 35 и 91%, а отрицателната прогностична стойност е между 67 и 90% [15]. Използвайки същата прагова стойност, установихме 90% Sn и 63.3% Sp, 71% PPV и 86.4% NPV за този туморен маркер за разграничаване на доброкачествени и злокачествени образувания на яйчника. По сведения от научната литература концентрации на СА125 > 95 IU/mL при жени в менопауза могат да помогнат за разграничаване на доброкачествени от злокачествени образувания [16] и нашите наблюдения подкрепят този факт. При жените в менопауза с ОК 59 (98.3%) са с СА125 \geq 95 IU/mL.

Има множество доказателства, че при жени с ОК се наблюдава понижаване на концентрацията на преалбумин [17]. Ние подкрепяме това твърдение, защото в нашето проучване при 40 (66.7 %) от жените с ОК се наблюдават понижени стойности на преалбумин.

Според някои изследователски проучвания нивото на АроА1 намалява при пациентки с рак на яйчниците [18]. Нашите резултати показваха, че нивата на АроА1 са понижени само при 12 (20%) от пациентките с ОК и според нас неговата чувствителност е ниска като самостоятелен маркер.

В нашето проучване 31 (51.7%) от жените с ОК показваха понижени стойности на TFR. Това корелира с данни от други изследвания, съобщаващи за понижени нива на TFR в серума на пациенти с рак на яйчниците [19].

Транстиретин, TFR и АроА1 са отрицателни реagens на острата фаза на възпалението. Техните концентрации намаляват при наличие на възпаление в организма. С нашите резултати ние потвърждаваме теорията, че туморогенезата е тясно свързана с възпалението [20, 21], тъй като доказаме понижаване на концентрациите и на трите протеина при пациентки с ОК.

Определихме прагови величини за изследваните от нас биомаркери и извършихме ROC анализ, за да проверим каква е диагностичната способност на биомаркерите за разграничаване на пациентите с ОК от пациентите с ДОТ.

Установихме, че нивата на значимост на 5-те протеина са по-малки от 0.05 (табл. 5), следователно те могат надеждно да се използват за диференциране на ОК от ДОТ.

Праговите значения на 4 от протеините – СА125, преалбумин, TFR и β_2 MG, определят много добра диагностична Sp > 60% (табл. 4). Това дава основание да смятаме, че тези 4 серумни белтъка могат да се използват като диагностични тестове за разграничаване на ОК от ДОТ.

Високата диагностична Sn > 73% (табл. 4) и на 5-те протеина пък ни дава основание да смятаме, че те могат да се използват и като скриниращи тестове за ОК. Затова тези маркери могат да служат като полезни инструменти за скрининг, особено при асимптомни индивиди [22].

AUC коефициентите са високи за 5-те протеина и надхвърлят 0.666, от което можем да направим извода, че те могат правилно да разграничат ОК от ДОТ в 66.6% и могат да бъдат използвани в предоперативната диагностика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определянето на серумните концентрации на транстиретин, трансферин, апоА1-липопротеин и β_2 -микроглобулин, в комбинация със СА125, може значително да подобри предоперативната диференциална диагноза на овариалните тумори. Тези тестове са лесно достъпни, неинвазивни, адаптивни за по-голямата част от анализаторите, с които работим в клиничната лаборатория, могат рутинно да се изследват и са икономически изгодни. Практическата стойност на този подход е свързана както с по-точна предоперативна оценка, така и с избор на адекватна терапевтична стратегия, особено при пациентки с висок хирургичен риск или при жени в репродуктивна възраст, където щадящото лечение е приоритет.

Смятаме, че нашите резултати биха подпомогнали диагностицирането на овариалния карцином, за да се подобри неговото ранно откриване и по този начин да се повиши преживяемостта на пациентките с това коварно заболяване.

Благодарности: Този проект е финансиран от Медицински университет – Плевен, чрез изследователски проект D1/2020 и подкрепен от УМБАЛ „Света Марина“ – Плевен.

БИБЛИОГРАФИЯ

- Dunton C, Bullock RG, Fritsche H. (2019). Ethnic Disparity in Clinical Performance Between Multivariate Index Assay and CA125 in Detection of Ovarian Malignancy. *Future Oncology*, 15(26), 3047–3051. <https://doi.org/10.2217/fon-2019-0310>
- Dochez V, Caillon H, Vaucel E, et al. Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RMI and ROMA, a review. *J Ovarian Res*. 2019;12:28. doi:10.1186/s13048-019-0503-7.
- López-Portugués C, et al. Biomarkers in Ovarian Cancer: Towards Personalized Diagnostic Panels. *Proteomes*. 2024;12(1):8. doi:10.3390/proteomes12010008.
- Pan C, et al. Circulating proteins and metabolites panel for non-invasive preoperative diagnosis of epithelial ovarian cancer. *BMC Med*. 2025;23:341. doi:10.1186/s12916-025-04341-2.
- Nosov V, et al. Validation of serum biomarkers for detection of early-stage ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15(2):478–486. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1180.
- Clarke CH, et al. Proteomic biomarkers ApoA1, truncated transthyretin and transferrin enhance sensitivity of CA125 for detection of early stage epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2011;122(3):548–553. doi:10.1016/j.ygyno.2011.05.002.
- Чакалова Г. Опортюнистичен скрининг за овариален карцином- контингенти, методи, съвременни алгоритми. Национално ръководство: Поведение при овариален карцином, МОРЕ 2014;45-50.
- Семова Т, Димитров Д, Хинкова Н и др. Първични синхронни тумори на ендометриума и яйчника – едноцентрово ретроспективно проучване. *Български медицински журнал*, 2024, 18(4), 42-50.
- Бочева Я. Предиктивна стойност на някои туморни маркери при проследяване на онкоболни – верифициране с FDG PET/CT. Автореф. на дис. труд за придобиване на ОНС „доктор“, МУ – Варна, 2014.
- Hussain F, Hassan A, Tunio A, et al. Gynecologic tumor markers. Updated Aug. 2005.
- Vasileva M, Gorcheva Z. Using magnetic resonance tomography as an imaging method for pre-operative evaluation of early-stage endometrial cancer. *Journal of Biomedical and Clinical Research*. 2024 Jun 28;17:143-55.
- Alexandrova E, Smal M, Di Rosa D, et al. BRPF1 inhibition reduces migration and invasion of metastatic ovarian cancer cells, representing a potential therapeutic target. *Scientific Reports*. 2025 Mar 4;15(1):7602.
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021 May;71(3):209-49.
- Holschneider CH, Berek JS. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors. In *Seminars in surgical oncology* 2000 Jul (Vol. 19, No. 1, pp. 3-10). New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Pepin K, del Carmen M, Brown A, Dizon DS. CA 125 and epithelial ovarian cancer: role in screening, diagnosis, and surveillance. *American Journal of Hematology/Oncology®*. 2014 Dec 1;10(6).
- Algeciras-Schimmich A. Ovarian cancer: a review of current serum markers and their clinical applications. *Clinical Laboratory News*. 2013.
- Zhang Z, Bast Jr RC, Yu Y, et al. Three biomarkers identified from serum proteomic analysis for the detection of early stage ovarian cancer. *Cancer research*. 2004 Aug 15;64(16):5882-90.
- Gadomska H, Grzechocińska B, Janecki J, et al. Serum lipids concentration in women with benign and malignant ovarian tumours. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2005 May 1;120(1):87-90.
- Ahmed N, Oliva KT, Barker G, et al. Proteomic tracking of serum protein isoforms as screening biomarkers of ovarian cancer. *Proteomics*. 2005 Nov;5(17):4625-36.
- Shan W, Liu J. Inflammation: a hidden path to breaking the spell of ovarian cancer. *Cell Cycle*. 2009 Oct 1;8(19):3107-11.
- Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow?. *The Lancet*. 2001 Feb 17;357(9255):539-45.
- Stefanova D, Stoykov D, Gorcheva Z. Non-invasive screening methods for early detection of colorectal cancer. *Surgery*. 2025 Jul 16;89(2).