

## ЛОГИСТИЧНИ МОДЕЛИ С ПЕТ СЕРУМНИ БИОМАРКЕРА ЗА ПРЕДОПЕРАТИВНО РАЗГРАНИЧАВАНЕ НА ДОБРОКАЧЕСТВЕНИ ОВАРИАЛНИ ТУМОРИ ОТ ОВАРИАЛЕН КАРЦИНОМ

**В. Рачева<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Клинична лаборатория, УМБАЛ „Света Марина“ – Плевен

<sup>2</sup>Медицински университет – Плевен

## LOGISTIC MODELS WITH FIVE SERUM BIOMARKERS FOR PREOPERATIVE DIFFERENTIATION OF BENIGN OVARIAN TUMORS FROM OVARIAN CARCINOMA

**V. Racheva<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Clinical Laboratory, University Multiprofile Hospital for Active Treatment "Sveta Marina" – Pleven

<sup>2</sup>Medical University – Pleven

**Резюме.** Овариалният карцином (ОК) е сред водещите причини за смъртност при жените с онкологични заболявания на репродуктивната система. Заболяването често се диагностицира в напреднал стадий поради липсата на характерни симптоми и ефективни скринингови стратегии. Ранното разграничаване на доброкачествените овариални тумори (ДОТ) от ОК има ключово значение за избора на оптимална хирургична тактика и подобряване на дългосрочната прогноза. Класическите диагностични методи, включващи образни изследвания и определяне на туморни маркери като СА125, често не осигуряват достатъчна чувствителност и специфичност. Поради това се разработват многовариантни модели, които комбинират биомаркери и клинични параметри за по-точна оценка на риска. Определяйки концентрациите на 5 серумни протеина – транстиретин, трансферин, аполипопротеин А1,  $\beta_2$ -микроглобулин и СА125 и проследявайки техните диагностични способности, използвайки логистична регресия, създадохме формули, които могат да се приложат в компютърна програма. Тяхното прилагане след проведен гинекологичен преглед и установен овариален тумор, би било полезно в предоперативната диференциална диагностика.

**Ключови думи:** овариален карцином, доброкачествени овариални тумори, биомаркери, логистичен модел, СА125, аполипопротеин А1, преалбумин, трансферин,  $\beta_2$ -микроглобулин

**Адрес за кореспонденция:** Д-р Валерия Рачева, e-mail: v\_ra4eva22@abv.bg

**Abstract.** Ovarian carcinoma (OC) is one of the leading causes of mortality in women with oncological diseases of the reproductive system. The disease is often diagnosed at an advanced stage due to the lack of characteristic symptoms and effective screening strategies. Early differentiation of benign ovarian tumors (BOT) from OC is of key importance for choosing the optimal surgical tactics and improving the long-term prognosis. Classical diagnostic methods, including imaging studies and determination of tumor markers such as CA125, often do not provide sufficient sensitivity and specificity. Therefore, multivariate models are being developed that combine biomarkers and clinical parameters for a more accurate risk assessment. By determining the concentrations of five serum proteins – transthyretin, transferrin, apolipoprotein A1,  $\beta_2$  microglobulin and CA125 and monitoring their diagnostic abilities using logistic regression, we created formulas that can be implemented in a computer program. Their application after a gynecological examination and the detection of an ovarian tumor would be useful in preoperative differential diagnosis.

**Key words:** ovarian carcinoma, benign ovarian tumors, biomarkers, logistic model, CA125, apolipoprotein A1, prealbumin, transferrin,  $\beta_2$ -microglobulin

**Address for correspondence:** Valeriya Racheva, MD, e-mail: v\_ra4eva22@abv.bg

### ВЪВЕДЕНИЕ

Ежегодно по света се диагностицират повече от 200 000 случая на овариален карцином [9]. Той остава водеща причина за смъртност сред гинекологичните злокачествени заболявания, главно поради липсата на характерни симптоми и ограничените възможности за ранно откриване [1, 2]. Повечето пациентки се диагностицират в напреднал стадий, когато терапевтичните възможности са ограничени и преживяемостта остава ниска [1].

В този контекст точната предоперативна диференциална диагноза между доброкачествени овариални тумори (ДОТ) и овариален карцином (ОК) е от решаващо значение за избора на хирургичен подход и определянето на последващото лечение [3, 4]. Традиционно диагностичната оценка се базира на комбинация от образни методи, клинични характеристики и серумни туморни маркери, като най-често използваният от тях е СА125 [5, 6]. Въпреки това стойностите на СА125 могат да са повишени и при редица доброкачествени състояния,

което ограничава неговата специфичност, особено при жени в пременопауза [6]. Затова през последното десетилетие се наблюдава засилен интерес към мултипараметрични модели, комбиниращи няколко серумни биомаркера и клинични променливи, за да се постигне по-висока диагностична точност [7, 8].

Сред потенциалните биомаркери внимание привличат протеини, свързани с метаболизма и възпалението – като преалбумин (prealb), апо-липопротеин А1 (ApoA1), трансферин (TFR) и  $\beta_2$ -микроглобулин ( $\beta_2$ MG), които могат да отразяват системни промени, свързани с туморния процес [10-12]. Има изследвания, показващи, че комбинации от тези белтъци с CA125 подобряват предоперативното разграничаване на доброкачествени и злокачествени овариални образувания [11, 12]. Разработването на логистични регресионни модели, включващи такива панели от биомаркери, се очертава като обещаващ подход за оптимизация на диагностичния алгоритъм и индивидуализиране на терапевтичните решения [3, 7].

**Целта** е да се оцени диагностичната стойност на 5 серумни белтъка – преалбумин, ApoA1, CA125, трансферин и  $\beta_2$ -микроглобулин, при предоперативно разграничаване на ДОТ от ОК чрез изграждане на логистични регресионни модели, като се отчита менопаузалния статус. Чрез прилагане на ROC анализ да се определят оптимални прагови стойности, чувствителност, специфичност и клинична приложимост на предложените модели.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В настоящото проучване са обхванати 120 жени, хоспитализирани в Гинекологичната клиника на УМБАЛ „Света Марина“ – Плевен, за периода януари-ноември 2020 г. Всички пациентки са постъпили по повод на овариален тумор, установен при гинекологичен преглед и трансвагинална ехография (TVUS). След проведената оперативна интервенция и последващата хистопатологична верификация е поставена окончателната диагноза, въз основа на която изследваните лица са разпределени в две основни групи:

- Група 1 – с ОК: жени с хистологично доказан овариален карцином ( $n = 60$ ), на средна възраст 57.67 години.

- Група 2 – с ДОТ: жени с хистологично потвърдени доброкачествени овариални формации ( $n = 60$ ), на средна възраст 40.23 години.

Всички участнички са подписали информирано съгласие за включване в проучването, съгласно Декларацията от Хелзинки (2013). Проучването е одобрено от *Етичната комисия* на Медицинския университет – Плевен.

**Критерии за включване.** В проучването са обхванати жени над 18-годишна възраст с ехографски и клинично доказан овариален тумор, подлежащ на хирургично лечение. Допълнителни критерии за включване са липса на анамнеза за злокачествено заболяване през последните 5 години и наличие на предоперативни серумни проби в адекватно състояние за анализ.

**Събиране и съхранение на пробите.** Преди оперативната интервенция от всички участнички е взета венозна кръв във вакуумни епруветки с гел-сепаратор. Пробите са центрофугирани при 3500 g за 15 min, след което отделеният серум е прехвърлен в транспортни епруветки тип Eppendorf, индивидуално обозначени с идентификационен (ID) номер. Серумните проби са съхранявани при  $-20^{\circ}\text{C}$  до момента на извършване на лабораторните анализи.

**Лабораторни изследвания.** Измерванията на 5-те серумни протеина са проведени в Клиничната лаборатория на УМБАЛ „Света Марина“ – Плевен, при спазване на стандартните аналитични процедури.

- Транстиретин (преалбумин), трансферин, ApoA1 и  $\beta_2$ -микроглобулин са определени с имунотурбидиметричен метод на автоматичен биохимичен анализатор Beckman Coulter AU480.

- CA125 е измерен чрез флуоресцентен имуноензимен анализ (FEIA) с помощта на автоматичен имунологичен анализатор Tosoh AIA 360.

Резултатите са отчетени в съответните мерни единици, а всички анализи са извършени в рамките на 30 дни след вземане на пробите.

Статистическите анализи са направени с помощта на IBM SPSS Statistics 19.0 и EXCEL for Windows. За оценка на диагностичната ефективност на отделните биомаркери и на комбинираните модели е използван ROC анализ, като са изчислени площ под кривата (AUC), чувствителност, специфичност и оптимални прагови стойности. Нивото на статистическа значимост е прието при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛТАТИ

За да установим връзката между ДОТ и 5-те определяни биомаркера, използвахме множествена логистична регресия и създадохме 3 различни логистични модела според менопаузалния статус на пациентките – при жени в менопауза, при жени в пременопауза и общ модел без значение от менопаузалния статус. Изчислихме за всеки модел вероятността туморът да е доброкачествен и установихме как 5-те протеина повлияват тази вероятност. Използвахме ROC анализ за определяне на гранични cut off стойности на вероятността, както и нейната чувствителност ( $S_n$ ), специфичност ( $S_p$ ) и AUC.

**Модел при менопауза.** Видът на оценения модел, изразен по отношение на вероятността за наличие на ДОТ при жени в менопауза, има следния вид:

$$\hat{p} = \frac{1}{1 + e^{-(-5.398+0.002X_1+3.212X_2-0.010X_3+0.193X_4-0.126X_5)}}$$

e – Неперово число = 2.718

**Модел при пременопауза.** Видът на оценения модел, изразен по отношение на вероятността за наличие на ДОТ при жени в пременопауза, е със следния вид:

$$\hat{p} = \frac{1}{1 + e^{-(-1.933-0.002X_1+2.155X_2-0.013+0.584X_4-0.279X_5)}}$$

**Общ модел без значение от менопаузалния статус.** Видът на оценения модел, изразен по отношение на вероятността за наличие на ДОТ без значение от менопаузалния статус, има следния вид:

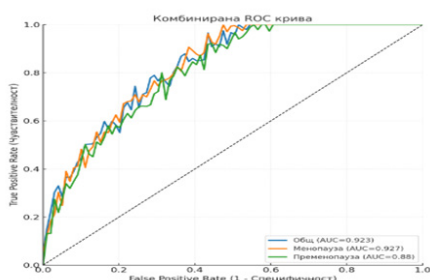
$$\hat{p} = \frac{1}{1 + e^{-(-2.846-0.002X_1+2.616X_2-0.012X_3+0.481X_4-0.394X_5)}}$$

И при трите модела чрез ROC анализ и построяване на ROC крива определихме cut off стойност за вероятността диагностицираният овариален тумор да е доброкачествен (табл. 1).

**Таблица 1. Cut off стойности и диагностични показатели на логистичните модели**

Area Under the Curve					
Модел	AUC	Cut off %	Ниво на значимост p	Sn %	Sp %
Общ	0.923	60	0.000	96.7	83.3
Менопауза	0.927	30	0.000	93.3	90.0
Пременопауза	0.880	78	0.000	93.3	80.0

Видно е, че диагностичната стойност на изчислената от нас вероятност и в 3-те модела е висока. Нейната статистическа значимост е 0.000 – по-малка от нивото на значимост 0.05. AUC стойностите са високи във всички модели – 0.927 при менопауза, 0.880 при пременопауза и 0.923 в общия модел. Оптималните cut off стойности са ≥ 30% (менопауза), ≥ 78% (пременопауза) и ≥ 60% (общ). Те показват стойността, която с най-голяма точност разграничава ДОТ от ОК при всеки един модел. Най-висока чувствителност (96.7%) е установена в общия модел, а най-висока специфичност (90.0%) – при модела за менопауза.



**Фигура 1. ROC криви на вероятността при трите модела**

## ОБСЪЖДАНЕ

Предоперативното разграничаване на ДОТ от ОК е все още сериозно предизвикателство в гинекологичната онкология. Ранната и точна диагностика е от съществено значение за определяне на хирургичната тактика, намаляване на ненужните радикални интервенции при доброкачествени състояния и оптимизиране на прогнозата при злокачествените тумори. Разработването на тест или алгоритъм, осигуряващ точен подход за оценка на риск от злокачествено заболяване на яйчниците е отдавна търсена цел. Многовариантен анализ, включващ туморни биомаркери заедно с ултразвук и подходящ алгоритъм, би бил полезен в предоперативната диагностика на овариалните тумори.

В настоящото проучване за оценка на връзката между менопаузалния статус, 5 серумни биомаркера и наличието на ДОТ е приложена множествена логистична регресия. Разработени са 3 отделни логистични модела: 1) модел при жени в менопауза; 2) модел при жени в пременопауза; 3) общ модел без значение от менопаузалния статус.

Създадохме формули за всеки един модел, чрез които получихме вероятността даден овариален тумор да е доброкачествен. Чрез тях можем да кажем как ще се измени шансът за ДОТ при нарастването или намаляването на всеки един протеин с единица при постоянно ниво на останалите фактори.

### Влияние на биомаркерите върху вероятността за ДОТ

- При жени в менопауза – вероятността за ДОТ се увеличава при повишаване на prealbumin, ApoA1 и TFR и при намаляване на CA125 и β<sub>2</sub>MG.

- При жени в пременопауза – вероятността за ДОТ се увеличава при повишаване на ApoA1 и TFR и при намаляване на prealbumin, CA125 и β<sub>2</sub>MG.

- В общия модел – вероятността за ДОТ се увеличава при повишаване на ApoA1 и TFR и при намаляване на prealbumin, CA125 и β<sub>2</sub>MG.

Използвайки тези регресионни модели и ROC анализ, построихме ROC криви и изчислихме cut-off стойности за вероятността за ДОТ. Резултатите показват, че комбинацията от тези показатели осигурява висока диагностична точност, изразена чрез AUC стойности в диапазона 0.880–0.927. Оптималните cut-off стойности демонстрират, че диагностичната точност може да бъде допълнително повишена при адаптиране на праговете според менопаузалния статус и показват диагностичния потенциал на моделите.

### Диагностичен потенциал

Прагът  $\geq 60\%$  за общия модел позволява правилно разграничаване на ДОТ от ОК в 92.3% от случаите. Прагът  $\geq 30\%$  при жени в менопауза постига точност 92.7%. Прагът  $\geq 78\%$  при жени в пременопауза постига точност 88.0%. Статистическата значимост на вероятността и в трите логистични модела е 0.000 – по-малка от нивото на значимост 0.05. Това потвърждава нейната значимост и ни дава основание да смятаме, че тя може да се използва като **диагностичен** тест в предоперативното разграничаване на ДОТ от ОК.

Високата диагностична Sn, която определихме на „показателя“ вероятност и при трите логистични модела, ни дава основание да считаме, че тя може да се използва и като **скринингов** тест при безсимптомни лица или пациентки с риск.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложените от нас логистични формули могат да бъдат интегрирани в софтуерен инструмент, който чрез въвеждане на индивидуалните стойности на 5-те серумни протеина, изчислява вероятността даден овариален тумор да се диференцира като ДОТ или ОК. Това би могло да е използвано в предоперативната диагностика, след проведен гинекологичен преглед и установен овариален тумор.

Смятаме, че нашите резултати подкрепят възможността за **по-точно разграничаване и ранно откриване на овариалния карцином**, което може да окаже положителен ефект върху преживяемостта и качеството на живот на пациентките. Според нас този подход има потенциал да предостави по-прецизни и персонализирани диагностични решения, които да се интегрират в клиничната практика и да подобрят лечението и прогнозата на пациентките.

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

### БИБЛИОГРАФИЯ

1. Menon U, Gentry-Maharaj A, Hallett R, Ryan A, Burnell M, Karpinskyj C, et al. Improved early detection of ovarian cancer using longitudinal multimarker models. *PLoS Med.* 2020;17(4):e1003350.
2. Zhang Z, Bast RC Jr, Yu Y, Li J, Zou T, Connolly DC, et al. Assessment of protein biomarkers for preoperative differential diagnosis between benign and malignant ovarian tumors. *Clin Chem.* 2020;66(12):1599-1608.
3. Alvarado-Castillo D, Pardo C, Peña MT, et al. Nomogram development for predicting ovarian tumor malignancy using inflammatory biomarker and CA-125. *J Ovarian Res.* 2024;17(1):101.
4. Kaijser J, Anttila M, Huvila J, et al. An ovarian cancer malignancy risk index composed of HE4, CA125, ultrasonographic score, and menopausal status. *Gynecol Oncol.* 2012;124(2):310-6.
5. Bast RC Jr, Hennessy B, Mills GB. Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RMI and ROMA, a review. *J Ovarian Res.* 2019;12:28.
6. Andersen M, Beale P, Howells RE, et al. Performance of a multianalyte test as an aid for the diagnosis of ovarian cancer in symptomatic women. *J Transl Med.* 2012;10:45.
7. Van Gorp T, Cadron I, Despierre E, et al. Biomarker-based models for preoperative assessment of adnexal mass: a multicenter validation study. *J Clin Oncol.* 2022;40(11):e111-e124.
8. Zheng M, Bian H, Shu L, et al. Exosomal biomarkers in the differential diagnosis of ovarian tumors: the emerging roles of CA125, HE4, and C5a. *J Ovarian Res.* 2023;16(1):123.
9. Т. Симова, Д. Димитров, Н. Хинкова, М. Василева, Е. Петкова Първични синхронни тумори на ендометриума и яйчника – едноцентрово ретроспективно проучване. *Български медицински журнал*, 2024, 18(4), 42-50.
10. Hanash SM, Pitteri SJ, Faca VM. Mining the plasma proteome for cancer biomarkers. *Nature.* 2008;452(7187):571-9.
11. Su F, Lang J, Kumar A, et al. Identification of human serum biomarkers for detection of ovarian cancer using high-density antibody microarrays. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21(11):1902-12.
12. Zhang Z, Yu Y, Xu F, et al. Combining ApoA1, transthyretin and transferrin as serum biomarkers for preoperative discrimination of benign and malignant ovarian tumors. *Clin Cancer Res.* 2019;25(16):5105-12.