

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ В КАЧЕСТВЕ ПРЕДИКТОРОВ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ РАКА ТЕЛА МАТКИ

Принькова Т.Ю.¹, Прохорова В.И.², Таганович А.Д.¹

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь;

²Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», Минск, Республика Беларусь

Реферат. Рак тела матки (РТМ) занимает 2-е место в мире по частоте встречаемости среди злокачественных новообразований женских половых органов. В настоящее время остается актуальным поиск наиболее значимых опухолевых маркеров для дооперационной оценки прогрессирования РТМ. Опухолеассоциированные белки, цитокины, рецепторы, показатели системы гемостаза и эндогенной интоксикации вовлечены в рост опухоли и прогрессирование опухолевого процесса. В статье представлены результаты исследования информативности данных показателей для оценки степени распространенности опухоли у пациенток, страдающих РТМ.

Ключевые слова: рак тела матки, стадия опухоли, эндогенная интоксикация, гемостаз, сывороточные уровни СА-125, TNF- α , VEGF, sICAM-1, p185, p55.

Введение. Рак тела матки является одной из самых актуальных проблем в онкогинекологии. В Республике Беларусь РТМ занимает 2-е место среди онкологических болезней женщин, уступая лишь раку молочной железы, и 1-е место — среди всей онкогинекологической патологии. Абсолютное число заболевших РТМ увеличилось в Беларуси с 2005 по 2014 гг. на 31,0% и составило 38,6 на 100000 женщин [1].

Одной из важнейших задач современной онкогинекологии является поиск признаков и свойств опухолей, на основе которых можно было бы прогнозировать течение заболевания и определять адекватную терапию. Эффективность лечения пациенток, страдающих РТМ, во многом определяется возможностью раннего выявления опухолевой прогрессии, т. е. оценкой распространенности опухоли на дооперационном этапе. Актуальным является поиск новых способов прогнозирования течения болезни, которые бы дополнили клинико-морфологические исследования.

Наиболее изученным опухолеассоциированным антигеном при раке женских половых органов является гликопротеин СА-125. Маркер СА-125 не является специфичным для РТМ, однако его повышенная концентрация в сыворотке крови наблюдается в 11–43% случаев этого заболевания. В то же время имеются немногочисленные работы, посвященные взаимосвязи сывороточного уровня СА-125 при РТМ со стадией болезни. Показано, что уровень СА-125 ассоциирован с глубиной инвазии опухоли в миометрий и метастазами в лимфатические узлы [2].

Опухолевая прогрессия — сложный многоступенчатый процесс, в который вовлечены факторы адгезии (ICAM-1), ростовые и провоспалительные цитокины и их рецепторы (VEGF, TNF- α , p55, p185). С участием этих факторов происходит лизис эндотелиального матрикса, что повышает способность опухолевых клеток к инвазии и метастазированию. Имеются данные об увеличении концентрации этих параметров в крови при различных злокачественных новообразованиях. При этом наиболее высокие цифры наблюдаются при распространенных формах рака [3, 4].

Прогрессирование рака также сопряжено с нарушением коагуляционного потенциала крови. Обнаружено усугубление гиперкоагуляционного состояния у пациентов онкологического профиля на поздних стадиях болезни [5]. Активация системы гемостаза сопровождается появлением в кровотоке специфических маркеров, отражающих степень повышения гемостатического потенциала крови, таких как фибриноген, D-димеры, фактор Виллебранда и др. Повышение их уровня у онкологических пациентов ассоциировано с прогрессированием болезни, гистологическим типом, отдаленными метастазами, плотностью микрососудистой сети, неблагоприятным прогнозом при раке яичников, желудка, легких, молочной железы, шейки матки [6].

Системное воздействие опухоли на организм сопровождается развитием синдрома эндогенной интоксикации. К его маркерам относятся продукты перекисного окисления липидов и белков, а также среднемолекулярные пептиды, способные формировать прочные комплексы с транспортными системами крови. В этих условиях происходит конформационная модификация транспортных компонентов крови, уменьшается число возможных сайтов связывания альбумином других соединений [7]. Все это указывает на то, что параметры, характеризующие эндогенную интоксикацию организма-опухоленосителя, также могут быть оценены в качестве потенциальных показателей прогрессирования опухолевого процесса.

Несмотря на успехи, достигнутые в изучении роли рассмотренных факторов, данные о возможном использовании показателей этих лабораторных тестов для оценки опухолевой прогрессии при РТМ единичны и противоречивы. Отсутствуют сведения об их диагностической ценности при определении степени распространенности опухоли у женщин, страдающих РТМ.

Цель работы — определение информативности определения концентрации опухолеассоциированных белков, уровня показателей свертывания крови и опухолевой интоксикации у женщин, страдающих раком тела матки на дооперационном этапе с целью оценки степени распространенности опухоли.

Материалы и методы. Исследовали плазму и сыворотку крови 107 женщин с диагнозом «рак тела матки», проходивших лечение на базе ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова». Заключительный диагноз выставлялся после гистологического подтверждения злокачественности процесса. Все пациентки были сопоставимы по возрасту, гистотипу опухоли и сопутствующим заболеваниям. Для изучения исследуемых показателей пациентки были разделены на группы в зависимости от распространенности опухоли: 1-я группа (n = 87) — нераспространенный опухолевый процесс (I–II стадии); 2-я группа (n = 20) — распространенный опухолевый процесс (III–IV стадии).

У всех пациенток до начала стационарного курса лечения в сыворотке крови определяли содержание опухолеассоциированных белков (ICAM-1, VEGF, CA-125, TNF- α), их рецепторов (p55, p185) методом иммуноферментного анализа на автоматическом плащечном иммуноферментном анализаторе открытого типа (BRIO-SIRIO SEAC, Италия); показатели коагулограммы — хронометрическим (фибриноген) и иммунотурбидиметрическими методами (D-димеры, фактор Виллебранда) на автоматическом анализаторе гемостаза Sta Compact (Diagnostica Stago, Франция); концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРП), карбонильных производных белков (КПБ), молекул средней массы (МСМ) — с использованием спектрофотометрических методов. Структурно-функциональное состояние альбумина определяли методом ЭПР-спектроскопии сыворотки крови. Оценивали интегральный параметр α (ЭПР- α), который отражает степень «загруженности» альбумина опухолевыми метаболитами.

Математическая обработка лабораторных данных включала проверку нормальности распределения количественных показателей с использованием критерия Шапиро–Уилка. Количественные значения показателей не подчинялись нормальному закону распределения и обработаны непараметрическими методами вариационной статистики с помощью программ Statistica 7.0, MedCalc. Оценку достоверности различий между независимыми группами проводили с использованием критерия Манна–Уитни (U-тест). Для изучения связей между показателями вычисляли коэффициент корреляции Спирмена (R). Оценку интегральной диагностической информативности лабораторных тестов проводили с помощью метода построения характеристических кривых (ROC-анализ). О диагностической ценности анализируемых показателей судили на основании расчета чувствительности, специфичности, положительной и отрицательной прогностической ценности и диагностической эффективности теста. Построение прогностической модели осуществляли с помощью метода бинарной логистической регрессии. Работоспособность модели проверяли на экзаменационной выборке. При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали как равное 5%.

Результаты и их обсуждение. В результате исследования выявлено, что у пациенток с III–IV стадиями РТМ концентрация опухолеассоциированных белков (VEGF, sICAM-1, CA-125), рецепторов (p185, p55) заметно выше, чем в группе пациенток с нераспространенным РТМ [8–10]. Уровень же КПБ и МСМ, напротив, достоверно ниже у пациенток группы 2 по сравнению с группой 1. У пациенток с распространенным РТМ отмечается увеличение более чем в 2 раза значений параметра ЭПР- α , концентрации D-димеров на 23,7%, ТБКРП — на 79% (таблица 1).

Таблица 1. — Концентрация опухолеассоциированных белков, показателей свертывания крови и эндогенной интоксикации в группах с разной степенью распространенности рака тела матки

Исследуемые показатели	Рак тела матки						Уровень значимости (p)
	группа 1 (стадия I–II), n = 87			группа 2 (стадии III–IV), n = 20			
	Me (Q1; Q3)	min	max	Me (Q1; Q3)	min	max	
D-димеры, мг/л	0,38 (0,32; 0,42)	0,12	3,78	0,47 (0,38; 0,48)	0,18	1,93	0,0322
Фибриноген, г/л	3,38 (3,02; 3,90)	1,74	5,49	3,69 (3,27; 4,08)	2,30	6,83	0,1503

Исследуемые показатели	Рак тела матки						Уровень значимости (p)
	группа 1 (стадия I–II), n = 87			группа 2 (стадии III–IV), n = 20			
	Me (Q1; Q3)	min	max	Me (Q1; Q3)	min	max	
Фактор Виллебранда, %	138,0 (113,0; 161,0)	54,0	300,0	139,5 (120,5; 160,0)	52,0	165,0	0,6895
MCM, опт. ед.	0,31 (0,27; 0,37)	0,20	0,66	0,27 (0,24; 0,31)	0,20	0,45	0,0128
ЭПР-α, отн. ед.	0,79 (0,61; 0,95)	0,00	2,65	1,62 (1,10; 1,77)	0,66	3,10	□ 0,0001
VEGF, нг/л	298,4 (222,3; 437,6)	70,4	800,0	447,3 (333,4; 610,8)	141,8	828,3	0,0046
p55, мкг/л	2,10 (1,80; 2,76)	0,17	5,60	3,19 (2,36; 4,76)	1,36	7,54	0,0001
sICAM-1, мкг/л	340,4 (281,7; 400,5)	170,4	865,6	620,4 (465,3; 708,5)	320,7	1220,8	□ 0,0001
ТБКРП, мкмоль/л	4,23 (3,27; 5,71)	1,99	28,20	7,57 (3,91; 9,40)	1,60	16,41	0,0023
КПБ, ммоль/л	1,05 (0,76; 1,52)	0,17	3,35	0,76 (0,58; 1,00)	0,26	1,77	0,0072
TNF-α, нг/л	8,43 (4,35; 14,65)	0,00	72,92	11,43 (0,00; 40,63)	0,00	518,48	0,4970
СА-125, кЕд/л	17,63 (12,77; 23,88)	6,36	87,15	53,77 (120,03; 115,65)	10,09	1622,70	0,0001
p185, нг/л	11,22 (3,78; 16,74)	0,00	43,86	17,35 (12,52; 24,54)	7,45	48,92	0,0004

Показатели, концентрация которых существенно изменялась у пациенток с РТМ в зависимости от распространенности опухоли (таблица 1), подвергали корреляционному анализу. Установлено, что со стадией РТМ заметно коррелирует sICAM ($R = 0,60$); умеренно — ЭПР-α ($R = 0,50$), СА-125 ($R = 0,37$), VEGF ($R = 0,37$), p55 ($R = 0,33$), p185 ($R = 0,39$) и слабо коррелируют следующие показатели: ТБКРП ($R = 0,26$), КПБ ($R = -0,22$), D-димеры ($R = 0,25$).

Обнаруженная взаимосвязь дала основание включить выделенные показатели (sICAM, ЭПР-α, СА-125, VEGF, p55, p185, ТБКРП, КПБ, D-димеры) в ROC-анализ. Их диагностическую эффективность оценивали с помощью анализа ROC-кривых и площадей под ними (таблица 2).

ROC-анализа для отобранных параметров позволил установить, что их определение обладает хорошей прогностической способностью (площадь под ROC-кривой находилась в пределах от 0,7 до 0,9). Диагностическая эффективность каждого из них в отдельности для определения степени распространенности РТМ находилась в пределах от 54 до 84%.

Самой высокой чувствительностью из всех отобранных параметров обладал тест на КПБ (90%), однако этот же тест имел и самую низкую диагностическую специфичность, т. е. применительно к этому тесту 90% (18 из 20) пациенток с III–IV стадиями РТМ были правильно отнесены в группу с распространенным РТМ, однако только у 46% (40 из 87) пациенток с I–II стадиями РТМ правильно классифицирован нераспространенный опухолевый процесс на основании порогового значения данного маркера ($\leq 1,11$ ммоль/л).

Наибольшее значение специфичности характерно для теста на ТБК-активные продукты (ТБКРП) — 89,7%. У 78 из 87 пациенток с I–II стадиями опухоли правильно диагностирован локальный опухолевый процесс на основании порогового значения маркера, но чувствительность его оказалась невысокой — 60%, т. е. 12 из 20 пациенток с III–IV стадиями заболевания правильно отнесены в группу с распространенным РТМ.

Таблица 2.— Характеристики ROC-кривых для опухолеассоциированных белков, показателей свертывания крови и эндогенной интоксикации при оценке распространенности рака тела матки

Показатель	Пороговое значение	ДЧ ¹ (95% ДИ)	ДС ² (95% ДИ ³)	AUC ⁵ (95% ДИ)	ДЭ ⁴ , %	P (vs AUC=0,5) ⁶
sICAM-1, мкг/л	>430,8	85,0 (62,1–96,8)	82,8 (73,2–90,0)	0,869 (0,790–0,926)	83,2	□ 0,0001
ЭПР-α, отн. ед.	>1,13	75,0 (50,9–91,3)	86,2 (77,1–92,7)	0,885 (0,809–0,939)	84,1	□ 0,0001
СА-125, кЕд/л	>26,05	70,0 (45,7–88,1)	82,8 (73,2–90,0)	0,780 (0,690–0,855)	80,4	□ 0,0001
VEGF, нг/л	>438,1	60,0 (36,1–80,9)	78,2 (68,0–86,3)	0,704 (0,608–0,788)	74,8	0,0026
p55, мкг/л	>2,97	60,0 (36,1–80,9)	85,1 (75,8–91,8)	0,780 (0,690–0,855)	80,4	□ 0,0001
p185, нг/л	>15,2	70,0 (45,7–88,1)	73,6 (63,0–82,4)	0,755 (0,662–0,833)	72,9	□ 0,0001
ТБКРП, мкмоль/л	>6,67	60,0 (36,1–80,9)	89,7 (81,3–95,2)	0,719 (0,624–0,802)	81,3	0,0043
КПБ, ммоль/л	≤1,11	90,0 (68,3–98,8)	46,0 (35,2–57,0)	0,705 (0,609–0,789)	54,2	0,0005
D-димеры, мг/л	>0,43	85,0 (62,1–96,8)	80,5 (70,6–88,2)	0,723 (0,628–0,805)	84,1	0,0008
Примечания: 1 — ¹ — диагностическая чувствительность. 2 — ² — диагностическая специфичность. 3 — ³ — доверительный интервал. 4 — ⁴ — диагностическая эффективность. 5 — ⁵ — площадь под ROC-кривой. 6 — ⁶ — уровень значимости, при котором оцениваемая AUC статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5.						

Используя отобранные показатели, для повышения эффективности прогнозирования степени распространенности опухоли разработана достоверная статистическая модель в виде регрессионного уравнения (P1), позволяющая прогнозировать вероятность наличия у пациентки распространенного РТМ ($\chi^2 = 60,4$; $p < 0,0001$). Для ее построения использовали метод пошагового включения предикторов, который ранжирует признаки в соответствии с их вкладом в модель.

$$P1 = \frac{\exp(-5,96 + 2,29 \times \text{ЭПР}\alpha + 0,008 \times \text{ICAM1} + 0,091 \times \text{p185} - 4,13 \times \text{КПБ})}{1 + \exp(-5,96 + 2,29 \times \text{ЭПР}\alpha + 0,008 \times \text{ICAM1} + 0,09 \times \text{p185} - 4,13 \times \text{КПБ})}$$

где P1 — вероятность прогнозирования распространенного РТМ;

exp — основание натурального логарифма – 2,718;

ЭПР-α, ICAM-1, p185, КПБ — значения соответствующих показателей сыворотки крови пациенток, страдающих РТМ.

Для оценки эффективности созданной модели был проведен ROC-анализ (таблица 3) с построением кривой (рисунок). Вычисленная площадь под ROC-кривой составила 0,955, что соответствует «отличному» качеству созданной модели согласно экспертной шкале AUC. При помощи анализа ROC-кривой установлено оптимальное значение порога классификации (вероятности для чувствительности и специфичности данной модели) — 0,41. Если значение P1 > 0,41, прогнозируется наличие у пациентки распространенного РТМ, соответствующего III–IV стадиям, при P1 < 0,41 прогнозируется наличие нераспространенного опухолевого процесса, соответствующего I–II стадиям.

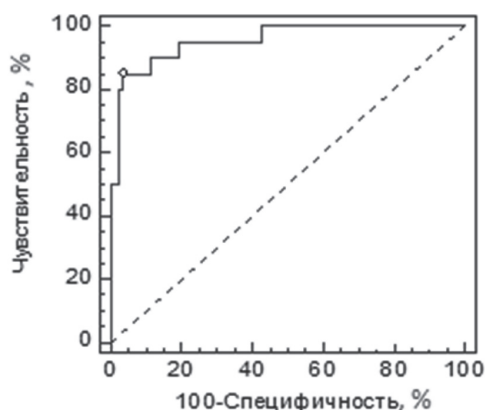


Рисунок — График ROC-кривой для оценки эффективности модели логистической регрессии P1

Таблица 3. — Характеристики ROC-кривой для логистической регрессионной модели P1

Площадь под ROC-кривой	0,955
Стандартная ошибка	0,0242
95% доверительный интервал	0,896–0,985
p (vs AUC = 0,5) ¹	<0,0001
Примечание — ¹ — уровень значимости, при котором оцениваемая AUC статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5.	

Далее оценивали предсказательную эффективность модели. При данном уровне порога классификации (0,41) определены диагностические характеристики созданной модели. В классификационной таблице (таблица 4) реальные показатели принадлежности пациенток к группе с распространенным или нераспространенным РТМ противопоставляются предсказанным на основе полученной модели.

Таблица 4. — Классификационная таблица логистической регрессионной модели (P1) принадлежности к группе пациенток, страдающих распространенным раком тела матки (III–IV стадии)

		Предсказано		Процент правильно классифицированных случаев	
		РТМ I–II стадии	РТМ III–IV стадии		
Реально	РТМ I–II стадии	85	2	97,44	чувствительность
	РТМ III–IV стадии	4	16	84,21	специфичность

При использовании регрессионного уравнения P1 85 пациенток из 87 (97,4%) правильно отнесены к группе с нераспространенным РТМ (I–II стадии), 16 из 20 (84,2%) правильно отнесены к группе с распространенным РТМ (III–IV стадии). Таким образом, чувствительность метода составила 97,4%, специфичность — 84,2%.

Общий процент правильно классифицированных (по распространенности опухоли) случаев РТМ на основе результатов применения данного уравнения составил 94,4%, т. е. из общего числа пациенток 94,4% были правильно отнесены в соответствующие группы по степени распространенности опухолевого процесса.

Полученную модель проверяли на состоятельность на экзаменационной группе, состоящей из 22 пациенток с различной степенью распространенности РТМ. При сопоставлении результатов диагностической процедуры с послеоперационной морфологической верификацией диагноза установлено, что 13 пациенток из 15 (86,7%) правильно отнесены к группе с нераспространенным РТМ (I–II стадии), 6 из 7 (85,7%) правильно отнесены к группе с распространенным РТМ (III–IV стадии). Таким образом, чувствительность метода составила 85,7%, специфичность — 86,7%. Общий процент правильно классифицированных (по распространенности опухоли) случаев РТМ на основе результатов применения уравнения P1 составил 86,3%, т. е. из общего числа пациенток 86,3% были правильно отнесены в соответствующие группы по степени распространенности опухолевого процесса.

Заключение. Таким образом, анализ результатов исследования концентрации опухолеассоциированных белков, уровня показателей свертывания крови и опухолевой интоксикации позволил создать регрессионное уравнение, включающее четыре показателя (ЭПР-α, ICAM-1, p185, КПБ). Данная математическая модель дает возможность прогнозировать с диагностической эффективностью 94,4% наличие у пациентки распространено-

го РТМ (III–IV стадии) на дооперационном этапе, что может быть использовано клиницистами в качестве дополнительного прогностического критерия при создании адекватных индивидуальных схем лечения.

Литература

1. Океанов, А.Е. Статистика онкологических заболеваний / А.Е. Океанов, П.И. Моисеев, Л.Ф. Левин; под ред. О.Г. Суконко. — Минск: РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, 2015. — 204 с.
2. Preoperative serum CA 125 level as a predictor for metastasis and survival in endometrioid endometrial cancer / B.P. Goksedef [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Can.* — 2011. — Vol. 33, № 8. — P. 844–850.
3. Serum levels of VEGF and VEGF-C in patients with endometrial cancer / B. Dobrzycka [et al.] // *Eur. Cytokine Network.* — 2011. — Vol. 22, № 1. — P. 45–51.
4. Serum adhesion molecule-1 (ICAM-1) as a potential prognostic marker for cholangiocarcinoma patients / M. Janan [et al.] // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* — 2012. — Vol. 13. — P. 107–114.
5. Тарабрин, О.А. Нарушения системы гемостаза у онкологических больных / О.А. Тарабрин, А.И. Мазуренко // *Достижения биологической та медицины.* — 2012. — № 1. — С. 23–29.
6. High D-dimer levels are associated with poor prognosis in cancer patients / C. Ay [et al.] // *Haematologica.* — 2012. — Vol. 97, № 8. — P. 1158–1164.
7. Chandran, V. Protein oxidation: a potential cause of hypoalbuminemia in oral cancer / V. Chandran // *Biomed. Res.* — 2012. — Vol. 23, № 2. — P. 227–230.
8. Изменение уровня фактора роста эндотелия сосудов — VEGF и фактора межклеточной адгезии ICAM-1 в сыворотке крови больных раком тела матки / А.Д. Таганович [и др.] // *Мед. журн.* — 2011. — № 2. — С. 103–106.
9. Лабораторные показатели эндогенной интоксикации при раке тела матки и значение их определения для оценки стадии и степени дифференцировки опухоли / Т.Ю. Принькова [и др.] // *Лаб. диагностика. Вост. Европа.* — 2012. — № 4. — С. 79–87.
10. К вопросу о диагностической значимости определения концентрации фактора некроза опухоли- α и его растворимого рецептора p55 в сыворотке крови при раке тела матки / Т.Ю. Принькова [и др.] // *Лаб. диагностика. Вост. Европа.* — 2013. — № 1. — С. 76–83.

THE USE OF LABORATORY SERUM PARAMETERS AS PREDICTORS FOR TUMOR PROGRESSION IN PATIENTS WITH ENDOMETRIAL CANCER

Prinkova T.Yu.¹, Prokhorova V.I.², Tahanovich A.D.¹

¹*Educational Establishment “The Belarusian State Medical University”, Minsk, Republic of Belarus;*

²*State Institution “Republican Scientific & Practical Center of Oncology & Medical Radiology”, Minsk, Republic of Belarus*

Tumor proteins and their receptors (CA-125, TNF- α , VEGF, ICAM-1, p185, p55), parameters of haemostasis (fibrinogen, von Willebrand factor, D-dimer, parameters of thrombin generation test) and endogenous intoxication (lipid peroxidation substrates, protein carbonyl, middle molecular peptides, binding capacity of albumin (EPR- α)) play an important role in tumor growth and progression. To evaluate the prognostic significance of various serum biomarkers in preoperative staging of endometrial cancer the mathematical model using logistic regression was established. According to this model the level of ICAM-1, p185, EPR- α , protein carbonyl in serum is significant in identification the patients with III-IV stages of endometrial cancer. The diagnostic efficiency of model is 94.4%, sensitivity 97.4%, specificity 84.2%, cut-off >0.41 . The serum level of ICAM-1, p185, protein carbonyl and value of EPR- α may use in preoperative laboratory diagnosis of tumor stage in endometrial cancer patients.

Keywords: endometrial cancer, tumor stage, endogenous intoxication, haemostasis, serum level of CA-125, TNF- α , VEGF, ICAM-1, p185, p55.