

ОПУХОЛЕАССОЦИРОВАННЫЕ БЕЛКИ, ПОКАЗАТЕЛИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ОЦЕНКЕ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ У ЖЕНЩИН, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ ТЕЛА МАТКИ

Принькова Т.Ю., Прохорова В.И.*, Цырусь Т.П.*[,] Шишло Л.М.*[,]

Колядко Н.Н.*[,] Таганович А.Д.

УО «Белорусский государственный медицинский университет»
кафедра биологической химии

*ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»
г. Минск

Актуальность

Рак тела матки (РТМ) – одна из самых актуальных проблем в онкогинекологии, поскольку в последние десятилетия во всех экономически развитых странах мира отмечается неуклонный рост заболеваемости и смертности от данной патологии. В Республике Беларусь РТМ занимает второе место среди злокачественных новообразований у женщин, уступая лишь раку молочной железы, и первое место – среди всей онкогинекологической патологии. За период с 2000 по 2011 гг. заболеваемость РТМ в Беларуси выросла на 51% и составила 34,6 на 100 000 женщин (8).

В 80% случаев РТМ диагностируют на ранних стадиях, при которых прогноз заболевания обычно благоприятный (2, 6). Однако, при углубленном анализе выживаемости пациенток с I стадией РТМ обнаруживаются существенные различия. Так, 5-ти летняя выживаемость пациенток с Ia стадией составляет 91-95%, Ib – 80-86%, Ic – 50-65% (12). Прежде всего, это связано с тем, что в пределах одной стадии заболевания РТМ характеризуется различной агрессивностью опухолевого процесса, что приводит к различной выживаемости пациенток (6). Факторами высокого риска рецидивирования РТМ при ранних стадиях заболевания являются снижение дифференцировки, глубокая инвазия, возникновение регионарных метастазов. Своевременное обнаружение признаков опухолевой прогрессии, свидетельствующих о нарастании автономности и злокачественности опухоли, способствует правильному выбору адекватной тактики лечения.

В связи с этим, актуальным является поиск информативных критериев неблагоприятного течения РТМ, которые позволили бы выявить пациенток с высоким риском развития опухолевой прогрессии до операционного лечения.

Одним из наиболее приемлемых подходов, в частности, является изучение показателей биологической активности опухоли, выявляемых малоинвазивными лабораторными методами. Клиническая ценность лабораторных тестов неуклонно возрастает в связи с постоянным расширением спектра анализируемых параметров и применяемых технологий. Иногда выявление того или иного маркера является не просто дополнительным, а необходимым тестом, который предоставляет возможность выбрать наиболее эффективный способ лечения и прогнозировать развитие заболевания.

В последнее время активно ведется поиск таких предикторов неблагоприятного течения РТМ, позволяющих судить о степени агрессивности опухоли на дооперационном этапе. Изучаются раковые антигены, факторы роста, клеточной адгезии, цитокины, хемокины, гормоны (1, 10-11). Однако до сих пор не существует надежного теста, позволяющего выявить пациенток, страдающих РТМ, с высоким риском развития опухолевой прогрессии, поскольку ни один из лабораторных тестов в отдельности не обладает достаточной чувствительностью и специфичностью.

Цель работы – оценить информативность определения концентрации опухолеассоциированных белков, показателей свертывания крови и эндогенной интоксикации в сыворотке крови пациенток, страдающих раком тела матки и разработать совокупность диагностически значимых показателей крови для оценки риска развития опухолевой прогрессии.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования служила сыворотка крови 75 пациенток с установленным диагнозом «рак тела матки». У всех пациенток гистологическим методом подтверждена эндометриоидная adenокарцинома I стадии с различной степенью дифференцировки. Группу контроля составили 20 женщин без онкологической патологии в анамнезе. Возраст пациенток колебался в пределах от 29 до 80 лет (медиана – 59 лет), в группе контроля – 38-71 лет (медиана – 57 лет).

Пациентки были разделены на 2 подгруппы в соответствии со степенью риска развития локо-регионарных рецидивов и отдаленных метастазов, то есть, риска прогрессирования РТМ. Первая подгруппа включала 55 пациенток с низким риском (IA стадия, G1-2), вторая подгруппа – 20 пациенток с промежуточным (IA стадия G3; IB стадия G1-2) и высоким риском возникновения опухолевой прогрессии (IB стадия G3).

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 плашечном иммуноферментном анализаторе открытого типа (BRIO-SIRIO SEAC, Италия); показатели коагулограммы – хронометрическим (фибриноген) и иммунотурбидиметрическими методами (D-димеры, фактор Виллебранда (ФВ)) на автоматическом анализаторе гемостаза Sta Compact (Diagnostica Stago, Франция); параметры теста генерации тромбина измеряли на микроплашечном флуориметре Fluoroscan Ascent Thermo Electron (Финляндия); концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРП), карбонильных производных белков (КПБ), молекул средней массы (МСМ) – с использованием спектрофотометрических методов (3-5). Структурно-функциональное состояние альбумина определяли методом ЭПР-спектроскопии сыворотки крови. Оценивали интегральный параметр α (ЭПР- α), который отражает степень «загруженности» альбумина опухолевыми метаболитами (5).

Результаты исследования обработаны непараметрическими методами вариационной статистики с помощью программ Statistica 7.0, MedCalc. Для оценки значимости лабораторных показателей в выявлении распространенного РТМ на дооперационном этапе использовали методы логистической регрессии и ROC-анализа. При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали как равное 5%.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенных исследований выявлено заметное увеличение концентрации D-димеров, фибриногена, ФВ, МСМ, VEGF, ICAM-1, ТБКРП, значений ЭПР- α в крови пациенток с I клинической стадией РТМ по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$). При сравнении результатов теста генерации тромбина имеет место значимое увеличение эндогенного потенциала тромбина, параметра T_{max} и удлинение времени свертывания крови ($p<0,05$). Данные изменения указывают на наличие гиперкоагуляционного сдвига уже на ранних этапах развития опухоли.

Далее были проанализированы результаты измерения уровня опухолеассоциированных белков, показателей гемостаза и эндогенной интоксикации у пациенток, страдающих РТМ I стадии, в группах риска (таблица 1).

Исследуемые показатели	Группы риска						Уровень значимости (р)	
	Группа 1 (низкий риск), n=55			Группа 2 (промежуточный и высокий риск), n=20				
	Ме (Q1; Q3)	Min	Max	Ме (Q1; Q3)	Min	Max		
VEGF, нг/л	269,7 (200,0; 385,3)	70,4	671,3	368,3 (240,0; 504,5)	101,9	689,5	0,0043	
p55, мкг/л	2,15 (1,85; 2,71)	0,17	3,90	1,95 (1,65; 2,25)	1,29	4,90	0,2306	
sICAM-1, мкг/л	304,6 (265,5; 359,8)	170, 4	865,6	383,5 (309,4; 484,6)	260,8	534,7	0,0018	
TNF- α , нг/л	6,43 (2,37; 11,46)	0,00	42,37	10,75 (8,35; 16,90)	0,00	41,52	0,0149	
CA-125, кЕд/л	15,98 (11,40; 21,09)	6,36	87,15	19,67 (15,25; 24,31)	7,12	59,58	0,1102	
p185, мкг/л	5,47 (2,85; 13,27)	0,00	43,86	15,11 (11,84; 20,16)	2,29	40,52	0,0002	
Фибриноген, г/л	3,28 (2,93; 3,76)	1,74	5,49	3,38 (3,02; 4,02)	2,42	4,72	0,6993	
Фактор Вилльебранда, %	127,0 (99,0; 161,0)	54,0	300,0	154,5 (125,5; 161,5)	99,0	251,0	0,0638	
D-димеры, мг/л	0,34 (0,28; 0,39)	0,16	3,78	0,38 (0,36; 0,55)	0,12	1,02	0,0621	
lag-фаза, мин	3,75 (3,33; 4,00)	2,00	17,80	3,49 (2,37; 4,17)	1,54	10,20	0,1465	
ЭПТ, нмоль·мин	1253,5 (1168,3; 1489,3)	553, 0	3653,5	1280,2 (1158,4; 1376,2)	741,0	1850,7	0,5323	
Сmax, нмоль/л	207,7 (199,8; 282,3)	67,5	529,9	210,1 (167,0; 293,2)	87,5	445,7	0,8075	
Tmax, мин	6,80 (6,17; 7,50)	4,00	22,50	6,21 (4,99; 8,34)	3,54	16,80	0,2214	
MCM, опт. ед.	0,33 (0,27; 0,37)	0,20	0,66	0,31 (0,27; 0,35)	0,23	0,45	0,3316	
ТБКРП, мкмоль/л	4,17 (3,01; 5,45)	1,99	28,20	5,19 (3,88; 5,93)	3,27	7,31	0,0429	
KПБ, ммоль/л	1,09 (0,70; 1,61)	0,17	3,35	1,02 (0,84; 1,45)	0,35	2,27	0,8446	
ЭПР- α , отн. ед.	0,71 (0,58; 0,88)	0,00	2,65	0,88 (0,78; 1,05)	0,37	1,53	0,0149	

Таблица 1. Концентрация опухолеассоциированных белков, показателей свертывания крови и эндогенной интоксикации у пациенток, страдающих РТМ I стадии, в группах риска по развитию опухолевой прогрессии Уровень sICAM-1, ТБКРП, VEGF, TNF- α , p185 в группе 2 оказался выше, чем в группе 1 ($p<0,05$).

В группе пациенток с промежуточным и высоким риском развития опухолевой прогрессии значения ЭПР- α были выше на 23,9% по сравнению с группой пациенток с низким риском ($p<0,05$). Изменения, имевшие место в системе гемостаза у пациенток с I клинической стадией РТМ, не зависели от группы риска по развитию опухолевой прогрессии.

Показатели, значения которых существенно изменились у пациенток с РТМ в зависимости от распространенности опухоли (таблица 2), подвергли корреляционному анализу. Результаты позволили прийти к заключению, что со степенью риска развития опухолевой прогрессии умеренно коррелирует p185 ($R=0,43$); sICAM ($R=0,33$) и слабо коррелируют ЭПР- α ($R=0,28$), TNF- α ($R=0,29$), VEGF ($R=0,24$), ТБКРП ($R=0,23$) ($p<0,05$).

Обнаруженная взаимосвязь дала основание включить выделенные показатели (sICAM-1, ТБКРП, VEGF, p185, ЭПР- α , TNF- α) в ROC-анализ. Их диагностическую эффективность оценивали с помощью анализа ROC-кривых и площадей под ними (таблица 2).

Показатель	Пороговое значение	ДЧ (95% ДИ)	ДС (95% ДИ)	AUC (95% ДИ)	p (vs AUC = 0,5)
VEGF, нг/л	>345,5	65,0 (40,8-84,6)	72,7 (59,0-83,9)	0,654 (0,506 -0,801)	0,0410
sICAM-1, мкг/л	>365,8	65,0 (40,8-84,6)	78,2 (65,0-88,2)	0,733 (0,596-0,870)	0,0009
ТБКРП, мкмоль/л	>3,21	100,0 (83,2-100,0)	30,9 (19,1-44,8)	0,653 (0,526-0,781)	0,0186
TNF- α , нг/л	>8,43	75,0 (50,9-91,3)	65,5 (51,4-77,8)	0,684 (0,543-0,825)	0,0108
p185, мкг/л	>8,58	90,0 (68,3-98,8)	63,6 (49,6-76,2)	0,775 (0,662-0,888)	< 0,0001
ЭПР- α , отн. ед	>0,73	80,0 (56,3-94,3)	60,0 (45,9-73,0)	0,683 (0,545-0,821)	< 0,0001

Таблица 2. Характеристики ROC-кривых для тестов на VEGF, sICAM-1, ТБКРП, TNF- α , p185, ЭПР- α при оценке риска развития опухолевой прогрессии у женщин, страдающих раком тела матки I стадии

Примечание: ДЧ – диагностическая чувствительность; ДС – диагностическая специфичность; AUC – площадь под ROC-кривой; p (vs AUC = 0,5) – уровень значимости, при котором оцениваемая AUC статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5.

Для p185 и sICAM-1 площадь под ROC-кривой (AUC) находилась в интервале 0,7-0,8. Согласно экспертной шкале для значений AUC (9, 13), это свидетельствует о хорошей предсказательной ценности данных показателей. Для ЭПР-α, ТБКРП, VEGF, TNF-α площадь под кривой была в пределах от 0,6 до 0,7. Это свидетельствует об удовлетворительной их предсказательной способности. Следует заметить, что ни один из исследуемых параметров не обладал высокой чувствительностью и специфичностью одновременно.

Используя отобранные показатели, для повышения эффективности прогнозирования риска развития опухолевой прогрессии разработана достоверная статистическая модель в виде регрессионного уравнения (P), позволяющая прогнозировать вероятность промежуточного и высокого риска развития опухолевой прогрессии у пациенток с I стадией РТМ ($\chi^2=16,04$ $p<0,0001$). Для ее построения использовали метод пошагового включения предикторов, который ранжирует признаки в соответствии с их вкладом в модель. Наиболее информативными параметрами, по результатам логистического регрессионного анализа, оказались p185 и sICAM-1, которые и вошли в уравнение:

$$P = \frac{\exp(-4,73 + 0,0082 \times p185 + 0,0076 \times sICAM1)}{1 + \exp(-4,73 + 0,0082 \times p185 + 0,0076 \times sICAM1)}$$

где P – вероятность прогнозирования распространенного РТМ; exp – основание натурального логарифма – 2,718; ICAM-1, p185 – значения соответствующих показателей сыворотки крови пациенток, страдающих РТМ I стадии.

Для оценки эффективности созданной модели проводили ROC-анализ (таблица 3) с построением кривой (рисунок 1). Вычисленная площадь под ROC-кривой составила 0,844, что соответствует «очень хорошему» качеству созданной модели согласно экспертной шкале AUC. При помощи анализа ROC-кривой установлено оптимальное значение порога классификации (вероятности для чувствительности и специфичности данной модели) – 0,21. Если значение $P>0,21$, у пациентки, страдающей РТМ I стадии, прогнозируется высокий или промежуточный риск развития опухолевой прогрессии, при $P<0,21$ прогнозируется низкий риск.

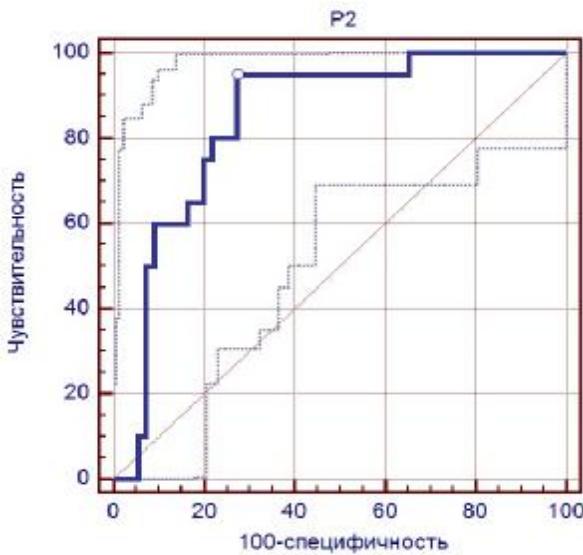


Рисунок 1 – График ROC-кривой для оценки эффективности модели логистической регрессии

Площадь под ROC-кривой	0,844
Стандартная ошибка	0,0476
95% доверительный интервал	0,750 - 0,937
p (vs AUC = 0,5)*	<0,0001

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

Примечание: p (vs AUC = 0,5) – уровень значимости, при котором оцениваемая AUC статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5.

При данном уровне порога классификации (0,21) определены диагностические характеристики созданной модели. В классификационной таблице (таблица 4) реальные показатели принадлежности к группам риска опухолевой прогрессии (1=низкий риск, 2=промежуточный и высокий риск) противопоставляются предсказанным на основе полученной модели.

Наблюдаемый показатель		Предсказано		Процент правильно классифицированных случаев	
		1	2		
Реально	1 (n=55)	40	15	72,7	специфичность
	2 (n=20)	1	19	95,0	чувствительность
Суммарный процентный показатель				78,7	диагностическая эффективность

Таблица 4. Классификационная таблица логистической регрессионной модели.

Таким образом, анализ результатов исследования позволил создать регрессионное уравнение, включающее два показателя (ICAM-1, p185). Данная математическая модель дает возможность прогнозировать с диагностической эффективностью 78,7% высокий и промежуточный риск развития опухолевой прогрессии на дооперационном этапе у пациентки с I клинической стадией РТМ, что может быть использовано клиницистами в качестве дополнительного прогностического критерия при создании адекватных индивидуальных схем лечения.

Список литературы

- 1 Абелев, Г.И. На пути к пониманию природы рака / Г.И. Абелев, Т.Л. Эрайзер // Биохимия. – 2008. – Т. 73, № 5. – С. 605–618.
- 2 Бугайцов, С.Г. Возможности современных инструментальных и лабораторных методов исследования в предоперационном стадировании рака эндометрия / С.Г. Бугайцов, Н.В. Тюева, А.Б. Щербина // Онкология. – Т.13, №1. – 2011. – С. 74–78.
- 3 Габриэлян, Н.И. Определение средних молекул скрининг-методом / Н.И. Габриэлян, А.А. Дмитриев // Клинич. медицина. – 1981. – № 10. – С. 38–42.
- 4 Гончаренко, М.С. Метод оценки перекисного окисления липидов / М.С. Гончаренко, А.М. Латинова // Лабораторное дело. – 1985. – № 1. – С. 60–61.
- 5 Дубинина, Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток / Е.Е. Дубинина. – Санкт Петербург, 2006. – 396 с.
- 6 Мавричев, С.А. Рак эндометрия низкого риска / С.А. Мавричев // Онкологический журнал. – 2013. – Т. 6, № 2 (26). – С. 93–102.
- 7 Метод ЭПР-спектрометрии спин-меченой сыворотки крови в диагностике злокачественных новообразований / А.А. Машевский [и др.] // Метод. рекомендации. – Минск, 1994. – 18 с.

- 8 Океанов, А.Е. Моисеев П.И., Левин Л.Ф. Статистика онкологических заболеваний / А.Е. Океанов, П.И. Моисеев, Л.Ф. Левин; под ред. О.Г. Суконко. – Минск: РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, 2012. – 333 с.
- 9 Hanley, J.A. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve / J.A. Hanley, B.J. McNeil // Radiology. – 1989. – Vol. 143. – № 1. – P. 29–36.
- 10 Predictive power of sexual hormones and tumor markers in endometrial cancer / M.Kanat-Pektas [et al.] // Arch. Gynecol. Obstet. – 2010. – Vol. 281. – P. 709–715.
- 11 Predictors of final histology in patients with endometrial cancer / M. Frumovitz [et al.] // Gynecol. Oncol. – 2004. – Vol. 95, № 3. – P. 463–468.
- 12 Routine pelvic lymphadenectomy in apparently early stage endometrial cancer / Zuurendonk L.D. [et al.] // Int. J. Gynecol. Cancer. – 2005. – Vol. 15, № 2. – P. 142.
- 13 Zweig, M.H. Receiver-operating (ROC) plot: a fundamental evaluation tool in clinical medicine / M.H. Zweig, G. Campbell // Clin. Chem. – 1993. – Vol. 39. – № 4. – P. 561–577.