

ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЕ БЕЛКИ, ПОКАЗАТЕЛИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В КАЧЕСТВЕ МАРКЕРОВ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ РАКА ТЕЛА МАТКИ

Принькова Т.Ю., Шишло Л.М.*, Колядко Н.Н.*

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) относится к распространенным злокачественным опухолям и занимает одно из первых мест в мире по заболеваемости среди злокачественных новообразований женских половых органов. 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 2012 гг. заболеваемость РТМ в Беларуси выросла на 51% и составила 34,6 на 100 000 женщин (7). Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в диагностике и лечении этого вида рака, в последние десятилетия отмечается постепенный и неуклонный рост заболеваемости, а также смертности от данной патологии (10).

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 оценкой распространенности опухоли на дооперационном этапе. Существующие на сегодняшний день методы клинико-инструментальной дооперационной диагностики не позволяют с достаточной степенью уверенности судить о распространенности опухоли до начала хирургического лечения; зачастую они обладают невысокой информативностью, имеют ряд ограничений и, к сожалению, далеко не всегда адекватно отражают объем ракового (6, 8-9). Вследствие таких неточностей и неадекватно выполненного в дальнейшем лечения снижается выживаемость пациенток из-за прогрессирования заболевания, возникновения рецидивов и отдаленных метастазов. В связи с этим, актуальным является поиск информативных критериев неблагоприятного течения РТМ, которые позволили бы до начала хирургического лечения составить представление о распространенности опухоли и на основе которых можно было бы прогнозировать течение заболевания и определять адекватную терапию.

В последнее время активно ведется поиск таких предикторов неблагоприятного течения РТМ. Изучаются раковые антигены, факторы роста, клеточной адгезии, цитокины, хемокины, гормоны (1, 14-15). Однако, о возможном использовании их для оценки распространенности опухоли при РТМ единичны и противоречивы, отсутствуют сведения об их диагностической ценности (11, 13).

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 в качестве предикторов распространенности опухоли.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования служила сыворотка крови 107 пациенток с установленным диагнозом «рак тела матки», проходивших лечение на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова». Заключительный диагноз выставлялся после гистологического подтверждения злокачественности процесса. Группу контроля составили 20 женщин без онкологической патологии в анамнезе. Возраст пациенток варьировал в пределах от 24 до 90 лет (медиана – 59 лет), в контрольной группе – 38-71 лет (медиана – 57 лет).

Распространение опухолевого процесса определяли в соответствии с Международной классификацией злокачественных новообразований TNM. Контингент пациенток, страдающих РТМ, имел следующее распределение по стадиям: I – 70,1%, II – 11,2%, III – 15,9%, IV – 2,8%.

Для оценки взаимосвязи исследуемых лабораторных показателей со степенью распространенности опухолевого процесса и выделения наиболее информативных из них были сформированы 2 группы пациенток, страдающих РТМ. Первую группу составили пациентки с I-II стадиями (n=87), во вторую группу вошли пациентки с III-IV стадиями болезни (n=20).

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 планшетном 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 микроплащечном 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 (2-4). Структурно-функциональное состояние альбумина определяли методом ЭПР-спектроскопии сыворотки крови. Оценивали интегральный параметр α (ЭПР- α), который отражает степень «загруженности» центров связывания альбумина (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

На первом этапе исследования мы анализировали уровень опухолеассоциированных белков, показателей свертывания крови и эндогенной интоксикации в крови пациенток, страдающих РТМ, по сравнению с группой клинически здоровых женщин, а также в зависимости от распространенности опухолевого процесса.

В результате проведенного анализа было установлено, что в сыворотке крови пациенток, страдающих РТМ, значительно увеличена по сравнению со значениями этих показателей у здоровых женщин, концентрация VEGF и sICAM-1, МСМ и ТБКРП ($p < 0,05$). Для пациенток, страдающих РТМ, характерно повышение коагуляционного потенциала крови, на что указывает достоверное увеличение концентрации фибриногена, ФВ, возрастание уровня D-димеров ($p < 0,05$), изменение параметров теста генерации тромбина, в частности, повышение эндогенного потенциала тромбина ($p < 0,05$). Снижается количество свободных мест связывания лигандов на молекулах альбумина, на что указывает увеличение ЭПР параметра α ($p < 0,05$) (таблица 1).

При этом у пациенток с распространенным РТМ (III-IV стадии) концентрация опухолеассоциированных белков (VEGF, sICAM-1, CA-125), рецепторов p185 и p55, значения параметра ЭПР- α , концентрация D-димеров, ТБКРП существенно выше, а уровень КПБ и МСМ ниже, чем в группе пациенток с нераспространенным РТМ (I-II стадии) ($p < 0,05$).

Таблица 1 – Изменение концентрации опухлеассоциированных белков, показателей свертывания крови и эндогенной интоксикации в крови пациенток, страдающих раком тела матки, с разной степенью распространенности опухоли

Исследуемые показатели	Контроль, n=20 Me (Q1; Q3)	Рак тела матки, n=107		p
		стадия I-II (n=87) Me (Q1; Q3)	стадия III-IV (n=20) Me (Q1; Q3)	
VEGF, нг/л	205,5 (150,0; 274,0)	298,4* (222,3; 437,6)	447,3* (333,4; 610,8)	0,0046
p55, мкг/л	1,93 (1,67; 2,41)	2,10 (1,80; 2,76)	3,19* (2,36; 4,76)	0,0001
sICAM-1, мкг/л	195,4 (169,2; 223,1)	340,4* (281,7; 400,5)	620,4* (465,3; 708,5)	<0,0001
TNF- α , нг/л	5,85 (4,90; 7,20)	8,43* (4,35; 14,65)	11,43 (0,00; 40,63)	0,4970
CA-125, кЕд/л	14,74 (11,09; 20,63)	17,63 (12,77; 23,88)	53,77* (20,03; 115,65)	0,0001
p185, мкг/л	11,23 (8,83; 13,43)	11,22 (3,78; 16,74)	17,35* (12,52; 24,54)	0,0004
Фибриноген, г/л	2,29 (1,95; 2,58)	3,38* (3,02; 3,90)	3,69* (3,27; 4,08)	0,1503
Фактор Виллебранда, %	65,5 (48,0; 97,0)	138,0* (113,0; 161,0)	139,5* (120,5; 160,0)	0,6895
D-димеры, мг/л	0,27 (0,15; 0,37)	0,38* (0,32; 0,42)	0,47* (0,38; 0,48)	0,0322
lag-фаза, мин	2,67 (2,33; 3,00)	3,75* (3,17; 4,44)	3,71* (3,02; 4,22)	0,5624
ЭПТ, нмоль·мин	1117 (995; 1201)	1275* (1168; 1445)	1203 (1064; 1339)	0,2736
C _{max} , нмоль/л	249,5 (228,5; 257,3)	207,7 (194,4; 282,3)	201,1 (159,7; 232,6)	0,1481
T _{max} , мин	4,78 (4,40; 5,22)	6,80* (6,17; 8,00)	6,74* (6,20; 8,05)	0,6091
МСМ, опт. ед.	0,26 (0,25; 0,29)	0,31* (0,27; 0,37)	0,27 (0,24; 0,31)	0,0128
ТБКРП, мкмоль/л	2,50 (1,99; 3,01)	4,23* (3,27; 5,71)	7,57* (3,91; 9,40)	0,0023
КПБ, ммоль/л	1,02 (0,78; 1,22)	1,05 (0,76; 1,52)	0,76 (0,58; 1,00)	0,0072
ЭПР- α , отн. ед.	0,64 (0,53; 0,72)	0,79* (0,61; 0,95)	1,62* (1,10; 1,77)	<0,0001

Примечание: Me – медиана; Q1 – 25-й процентиль, Q3 – 75-й процентиль; n – объем выборки; * – различия достоверны по сравнению с контролем (p<0,05); p – уровень значимости различий между группами «стадия I-II» и «стадия III-IV».

Обнаруженная взаимосвязь дала основание включить параметры sICAM-1, ЭПР- α , CA-125, VEGF, p55, p185, ТБКРП, КПБ, D-димеры в ROC-анализ. Их диагностическую эффективность оценивали с помощью анализа ROC-кривых и площадей под ними. Установлено, что их определение обладает хорошей прогностической способностью (площадь под ROC-кривой находилась в

пределах от 0,7 до 0,9) (12, 16). Диагностическая эффективность каждого из показателей в отдельности для определения степени распространенности РТМ, вычисленная на основе их диагностической чувствительности и специфичности находилась в пределах 54,2–84,1% (таблица 2).

Таблица 2 – Характеристики ROC-кривых для тестов на ЭПР- α , sICAM-1, СА-125, VEGF, p 55, p185, ТБКРП, КПБ, D-димеры при использовании их для оценки распространенности опухоли у женщин, страдающих раком тела матки

Показатель	Пороговое значение	ДЧ (95% ДИ)	ДС (95% ДИ)	AUC (95% ДИ)	ДЭ, %	p (vs AUC = 0,5)
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
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
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)	80,1	<0,0001
p185, мкг/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	\leq 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)	81,3	0,0008

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

С целью повысить диагностическую эффективность на следующем этапе мы попытались выяснить, как исследуемые параметры могут влиять на резульативный признак (распространенность опухоли) в совокупности. Для этого был применен метод бинарной логистической регрессии. Используя выделенные на предыдущем этапе исследования показатели была разработана достоверная статистическая модель в виде регрессионного уравнения, позволяющая прогнозировать вероятность наличия у пациентки распространенного РТМ ($\chi^2=60,4$ p<0,0001). Для ее создания мы использовали метод пошагового включения предикторов, позволяющий выбрать из всех факторных признаков те, которые оказывают существенное влияние на резульативную переменную.

$$P = \frac{\exp(-5,96 + 2,29 \times \text{ЭПР}\alpha + 0,008 \times \text{sICAM1} + 0,091 \times \text{p185} - 4,13 \times \text{КПБ})}{1 + \exp(-5,96 + 2,29 \times \text{ЭПР}\alpha + 0,008 \times \text{sICAM1} + 0,09 \times \text{p185} - 4,13 \times \text{КПБ})}$$

где P – вероятность прогнозирования распространенного РТМ; \exp – основание натурального логарифма – 2,718; ЭПР- α , sICAM-1, p185, КПБ – значения соответствующих показателей сыворотки крови пациенток, страдающих РТМ. Наиболее существенными прогностическими факторами, внесшими максимальный вклад в регрессионную модель, были концентрация sICAM-1, p185, КПБ в сыворотке крови, а также величина параметра ЭПР- α .

Для оценки эффективности созданной модели был проведен ROC-анализ с построением кривой (рисунок 1). Вычисленная площадь под ROC-кривой составила 0,955, что соответствует «отличному» качеству созданной модели согласно экспертной шкале AUC.

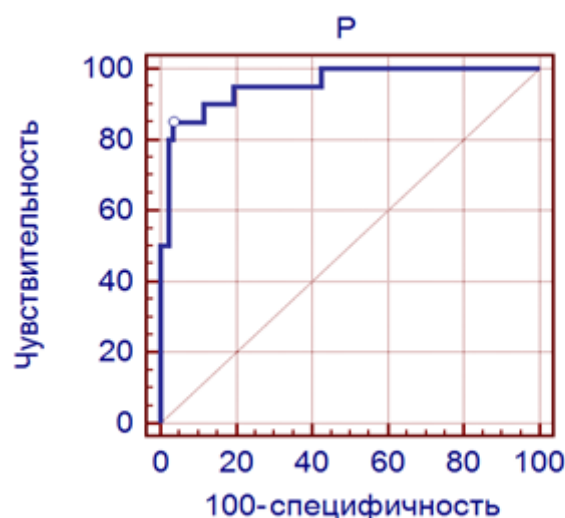


Рисунок 1 – График ROC-кривой для оценки эффективности модели логистической регрессии

При помощи анализа ROC-кривой установлено оптимальное значение порога классификации – 0,41. Если значение $P > 0,41$, прогнозируется наличие у пациентки распространенного РТМ, соответствующего III-IV стадиям, при $P < 0,41$ прогнозируется наличие нераспространенного опухолевого процесса, соответствующего I-II стадиям. Диагностические характеристики созданной модели приведены в таблице 3.

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).

Таблица 3 – Диагностические характеристики логистической регрессионной модели

Диагностическая чувствительность, %	96,5
Диагностическая специфичность, %	85,0
Диагностическая эффективность, %	94,4
Прогностическая ценность положительного результата, %	85,0
Прогностическая ценность отрицательного результата, %	96,5

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%. То есть, из общего числа пациенток 86,3% были правильно отнесены в соответствующие группы по степени распространенности опухолевого процесса.

Таким образом, на основании анализа результатов исследования разработана математическая модель, в основе которой лежит регрессионное уравнение. Оно включает четыре параметра, измеренные в сыворотке крови: показатель транспортной способности альбумина (ЭПР-α), концентрацию растворимого фактора межклеточной адгезии – sICAM-1, растворимого рецептора эпидермального фактора роста (p185) и карбонильных производных белков. Модель позволяет с вероятностью 94,4% диагностировать распространение опухоли, соответствующее III-IV стадиям РТМ, до оперативного лечения, что важно для составления индивидуальных схем терапии

Литература

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. Габриэлян, Н.И. Определение средних молекул скрининг-методом / Н.И. Габриэлян, А.А. Дмитриев // Клинич. медицина. – 1981. – № 10. – С. 38–42.
3. Гончаренко, М.С. Метод оценки перекисного окисления липидов / М.С. Гончаренко, А.М. Латинова // Лабораторное дело. – 1985. – № 1. – С. 60–61.
4. Дубинина, Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток / Е.Е. Дубинина. – Санкт Петербург, 2006. – 396 с.
5. Метод ЭПР-спектрометрии спин-меченой сыворотки крови в диагностике злокачественных новообразований / А.А. Машевский [и др.] // Метод. рекомендации. – Минск, 1994. – 18 с.

6. Минько, Б.А. Возможности современных ультразвуковых методик в диагностике рака эндометрия / Б.А. Минько [и др.] // Медицинский журнал «SonoAce-Ultrasound». – 2009. – №19. – С. 36–47.
7. 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, 2013. – 373 с.
8. Пашов, А.И. Значение гистероскопии в диагностике различных морфологических вариантов рака тела матки / А.И. Пашов // Современные технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний: матер. междунар. конгр. – М., 2004. – С. 238–239.
9. Сафронов, А.В. Оценка эффективности малоинвазивных методов диагностики гиперпластических процессов у женщин с постменопаузальными кровотечениями на современном этапе / А.В. Сафронов [и др.] // III съезд онкологов и радиологов СНГ: материалы съезда. – Минск, 2004. – С.216–217.
10. Cancer Statistics / A. Jemal [et al.] // Cancer J. Clin. – 2009. – Vol. 59. – № 4. – P. 225 – 249.
11. Farias-Eisner G., Su F., Robbins T., et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2010. – Vol. 202. – P. e1–e5.
12. 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.
13. Kanat-Pektas M., Yenicesu O., Gungor T., Bilge U. // Gynecologic Oncology. – 2010. – Vol. 281. – P. 709–715.
14. 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.
15. Predictors of final histology in patients with endometrial cancer / M. Frumovitz [et al.] // Gynecol. Oncol. – 2004. – Vol. 95, № 3. – P. 463–468.
16. 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.