

ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ ОПУХОЛИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Канд. биол. наук Л. А. ДЕРЖАВЕЦ

*Республиканский научно-практический центр онкологии
и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, Минск,
Республика Беларусь*

Предложен алгоритм лабораторного обследования пациентов, страдающих раком мочевого пузыря, позволяющий прогнозировать степень злокачественности опухоли еще на дооперационном этапе. Это даст возможность клиницистам осуществлять адекватную оценку риска развития рецидива или прогрессирования заболевания и применять дифференцированный лечебный подход.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, лабораторные показатели, биологические жидкости.

По данным канцер-регистра Республики Беларусь [1] заболеваемость злокачественными новообразованиями мочевого пузыря составила 10,3 на 100 000 жителей в 2002 г. и 12,1 — в 2011 г. Ежегодно в республике выявляют более 1000 новых случаев рака этой локализации, из которых около 80 % составляет немышечно-инвазивный рак. Несмотря на высокие показатели выживаемости после трансуретральной резекции (ТУР) мочевого пузыря при таком распространении, до 80 % немышечно-инвазивных опухолей рецидивируют и от 2 до 50 % прогрессируют в мышечно-инвазивную опухоль [2].

С целью определения адекватной тактики лечения рака мочевого пузыря (РМП) Европейским обществом по изучению и лечению рака (ЕОRTC) была разработана система балльной оценки рисков рецидивирования и прогрессирования. Основой данной системы служат клиничко-морфологические параметры опухоли: ее размер, вовлечение регионарных лимфоузлов, наличие/отсутствие гидронефроза, степень злокачественности опухолевых клеток (Grade), карцинома in situ и др. [3].

Основным методом лечения немышечно-инвазивной карциномы мочевого пузыря является ТУР. Однако терапия опухоли в настоящее время складывается не только из локального хирургического воздействия на опухоль, но и из общего воздействия на всю слизистую мочевого пузыря. Однократная внутривезикулярная инстилляция химиопрепарата, проведенная в течение ближайших 6 ч после ТУР, позволяет снизить риск рецидивирования на 50 % и может быть показана во всех случаях. Иммуноterapia внутривезикулярными введениями вакцины БЦЖ является высокоэффективным методом предотвращения рецидивирования и прогрессирования опухоли. Но ввиду опасности возникновения осложнений вакцина БЦЖ не рекомендуется пациентам с **низким риском рецидивирования и прогрессирования РМП (T_a, G1).**

Пациентам с опухолями высокой степени риска (T_a и T₁, G3, с/без опухоли in situ) проводится ТУР с введением одной дозы химиопрепарата, повторная ТУР — через 4–6 нед, адьювантная иммуноterapia вакциной БЦЖ с **возможной поддерживающей терапией** — в течение года. Таким образом, **лечебный подход к пациентам, страдающим РМП, определяется на основании их принадлежности к той или иной группе риска [4, 5].** Однако становится очевидным, что традиционных критериев риска недостаточно для полноценного прогнозирования, так как разделение опухолей только по морфологическим характеристикам не полностью отражает злокачественный потенциал РМП. Кроме того, принадлежность рака к той или иной категории клеточной атипии определяется морфологами только после удаления опухоли. Поэтому в последние годы были предприняты попытки выявить дополнительные прогностические факторы, которые позволили бы отличить опухоли с **высоким риском прогрессии и рецидивирования** от менее опасных новообразований еще на дооперационном этапе и **применять дифференцированный лечебный подход к пациентам, страдающим РМП [6].** Доказано, что большинство опухолей возникает и **развивается в результате каскадного накопления нарушений**, затрагивающих все виды обмена веществ, вовлеченных в процессы регуляции, деления, дифференцировки клеток. Выявление этих нарушений на разных стадиях опухолевого роста имеет решающее значение как для понимания механизмов прогрессирования опухолей, так и для разработки патогенетически обоснованных программ лечения в зависимости от распространенности процесса [7]. Известно, что в опухолевом организме прослеживается ситуация, при которой в системе биологических активных молекул неизбежно наступают изменения, коррелирующие со степенью распространения опухолевого роста. В частности, прогрессия

опухоль сопровождается окислительной модификацией биополимеров с изменением их функций и физиологической активности. Это приводит к повреждающему действию опухоли на организм-опухоленоситель, отражением которого является возникновение в кровеносном русле биологически активных молекул — «индикаторов» опухолевого процесса. Качественный и количественный их характер, а также взаимосвязь и взаимозависимость используются в качестве факторов выявления злокачественной патологии [8, 9]. Ряд белковых молекул, цитокинов, регуляторных и ростовых факторов опосредуют активацию злокачественного роста и прогрессию опухолей различных локализаций. Исследование этих факторов играет важную роль в обеспечении новых возможностей для улучшения диагностики, прогноза и оценки эффективности противоопухолевого лечения [10]. Цель проведенного исследования — оценка значимости лабораторных показателей для определения степени злокачественности опухоли, поскольку ее высокая степень (G3) является важным прогностически неблагоприятным признаком у пациентов, страдающих РМП.

Материалом для исследования служили сыворотка и плазма крови, моча 552 пациентов (497 мужчин и 55 женщин) с диагнозом немышечно-инвазивного РМП, получавших лечение в отделении онкоурологической патологии Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова в 2002–2010 гг. Возраст пациентов варьировал от 30 до 85 лет, большинство больных относились к возрастной категории старше 60 лет. Диагноз РМП установлен на основании рентгенологических, эндоскопических, клинических методов исследования с обязательной морфологической верификацией. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от степени злокачественности опухоли: 1-я группа — 362 пациента с низкой степенью злокачественности опухоли (Grade 1), 2-я группа — 190 больных с промежуточной и высокой степенями злокачественности опухоли (Grade 2 и Grade 3).

У всех обследованных пациентов до начала специального лечения в биологических жидкостях определялись концентрации опухолевых маркеров: Nuclear Matrix Protein 22 (NMP-22), Bladder Tumor Antigen (BTA), Tissue Polypeptide Antigen (TPA), Tissue Polypeptide Antigen Specific (TPS), Cytokeratin Fragment 19 (Cyfra 21–1), Urinary Bladder Cancer (UBC), раково-эмбриональный антиген (РЭА), тимидинкиназа (ТК); факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и растворимых форм их рецепторов: Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Fibroblast Growth Factor (FGF), Epidermal Growth Factor (EGF), Intercellular Adhesion Molecule (sICAM), Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (sPECAM), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Tumor Necrosis Factor Receptor p55, Transmembrane HER2-neu receptor p185;

факторов повреждения эндотелия (эндостатин, фактор Виллебранда, гомоцистеин); продуктов воспаления: С-реактивный белок (СРБ), антитрипсин, интерлейкин-8 (ИЛ-8); продуктов окислительной модификации белков и липидов: двойные связи (ДС) липидной фракции крови, малоновый диальдегид (МДА), нитрозодиметиламин, ЭПР (параметр α). Определение VEGF, FGF, sICAM, sPECAM, эндостатина, гомоцистеина, ТРА, ТРС, ТК в сыворотке крови и UBC, NMP-22, BTA в моче осуществляли методом иммуноферментного анализа на автоматических анализаторах Alisei («Seac», Италия) и Elecsys 2010 («Roche», Германия) с использованием наборов реагентов производства «BioSource», «R&D Systems», «Bender Med Systems», «DRG», «Roche». Иммунотурбидиметрическим методом устанавливали уровень фактора Виллебранда в плазме крови на анализаторе гемостаза STA Compact («Diagnostica Stago», Германия), определяли в сыворотке крови концентрацию СРБ и антитрипсина на автоматическом анализаторе «Hitachi-912» («Roche», Германия) Спектрофлуориметрическим методом с использованием флуоресцентного спектрометра «Hitachi-MPF-4» («Hitachi», Япония) исследовали содержание МДА в крови; определение ДС осуществляли методом озонирования на анализаторе двойных связей («АММО», Россия), ЭПР (параметр α) — методом спиновой ЭПР-спектрометрии на анализаторе «EPRA-9300» («Адани», Республика Беларусь).

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программного обеспечения STATISTICA 6.0 StatSoft и включала проверку нормальности распределения количественных показателей в выборке с использованием критерия Шапиро — Уилка. Количественные значения показателей, не подчинявшихся нормальному закону распределения, описывались в виде медианно-квартильных характеристик: медианы, 25-го и 75-го процентилей (Me (25–75)), минимального и максимального значений (min-max). При изучении статистических различий исследуемых показателей использовали критерий Манна — Уитни. Для анализа взаимосвязи между исследуемыми показателями применяли непараметрический корреляционный анализ Спирмена. В качестве критерия статистической значимости принимался уровень значимости $p < 0,05$. Для оценки значимости лабораторных показателей для определения степени злокачественности опухоли использовали ROC-анализ и метод последовательной диагностической процедуры.

Непараметрический корреляционный анализ Спирмена показал, что умеренно коррелируют ($R = 0,35–0,55$; $p < 0,05$) со степенью злокачественности опухоли следующие показатели: VEGF, p55, sPECAM, NMP 22, sICAM, антитрипсин, p185, эндостатин. Анализ чувствительности и специфичности вышеперечисленных показателей проводили с учетом построения характеристических

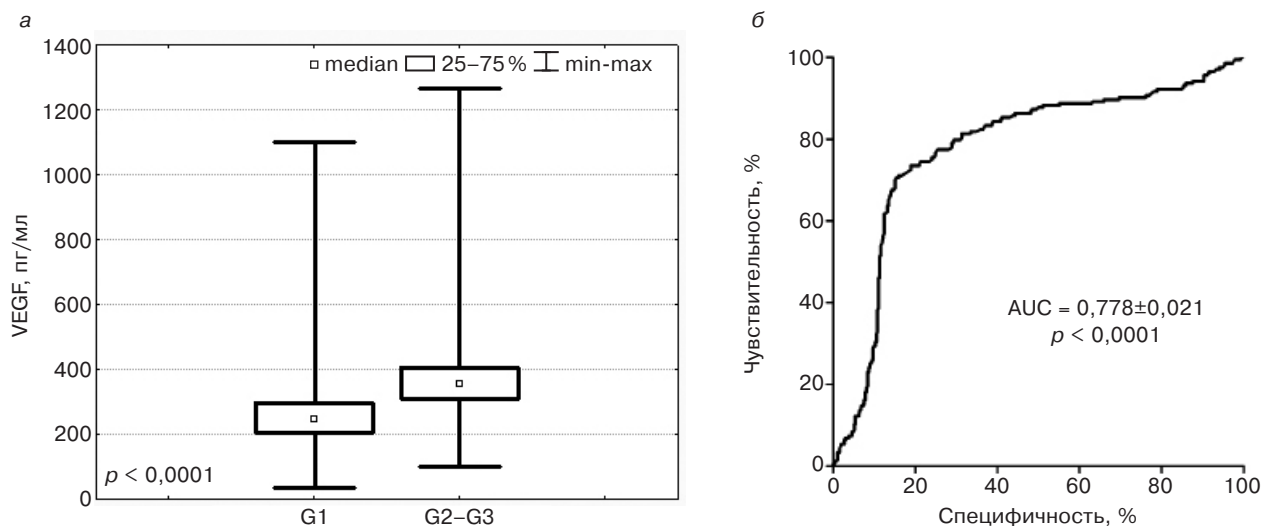


Рис. 1. Распределение содержания VEGF в группах G1, G2-G3 (а); ROC-кривая VEGF (ДЧ = 79,4%; ДС = 68,7%) (б)

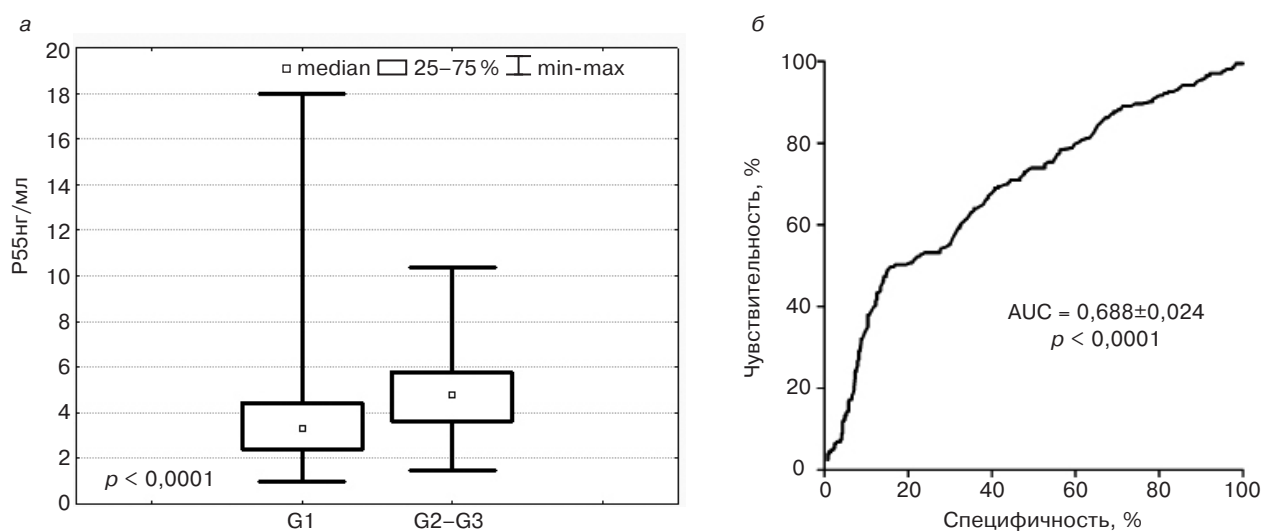


Рис. 2. Распределение содержания p55 в группах G1, G2-G3 (а); ROC-кривая p55 (ДЧ = 67,5%; ДС = 65,3%) (б)

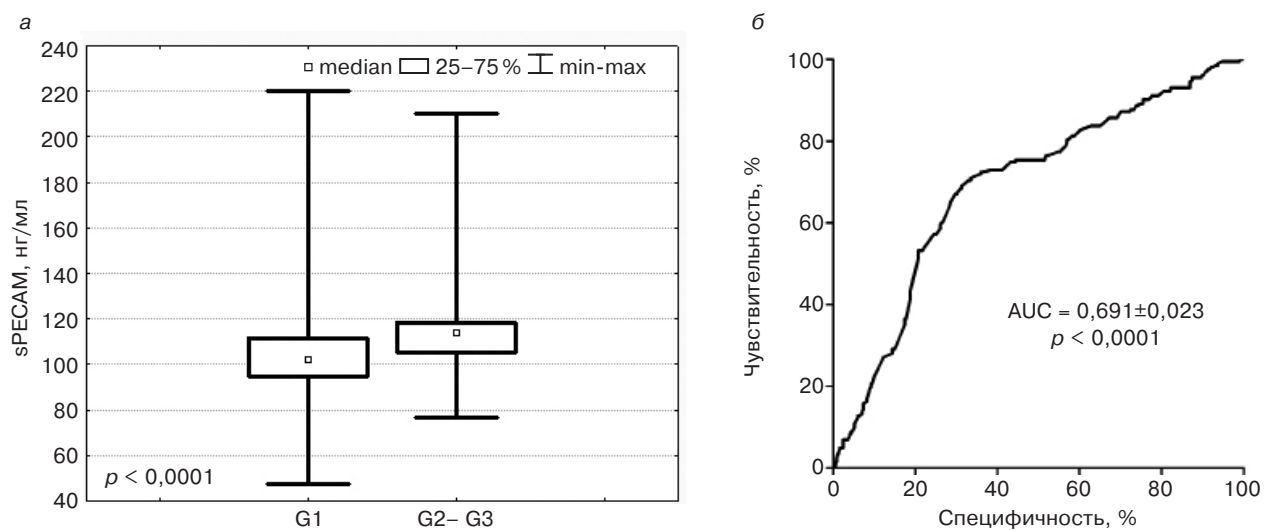


Рис. 3. Распределение содержания sPESAM в группах G1, G2-G3 (а); ROC-кривая sPESAM (ДЧ = 72,9%; ДС = 61,6%) (б)

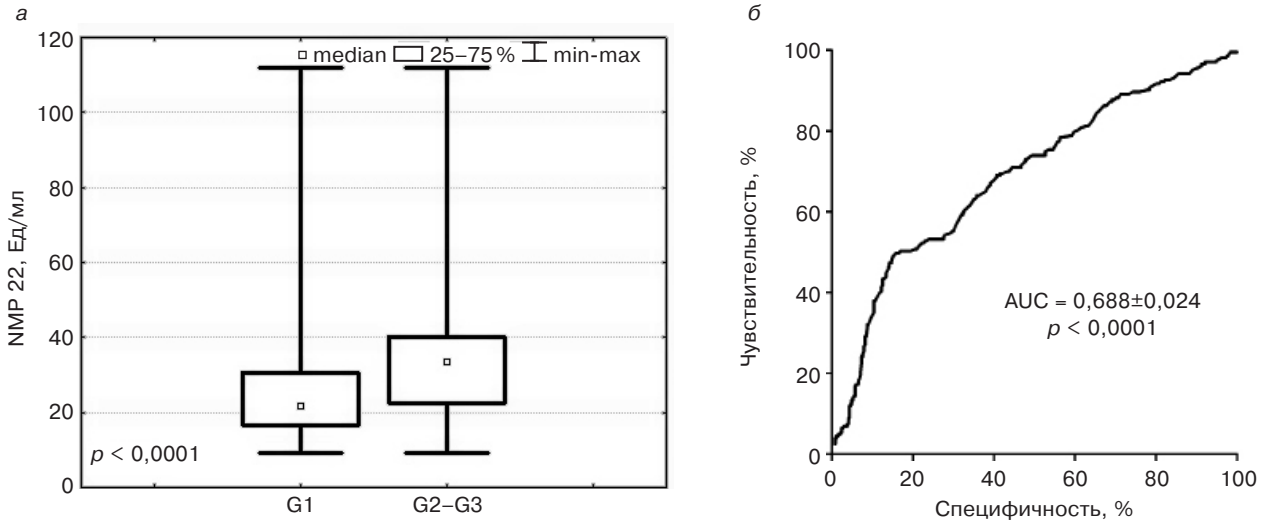


Рис. 4. Распределение содержания NMP22 в группах G1, G2-G3 (а); b) ROC-кривая NMP22 (ДЧ = 66,0%; ДС = 61,5%) (б)

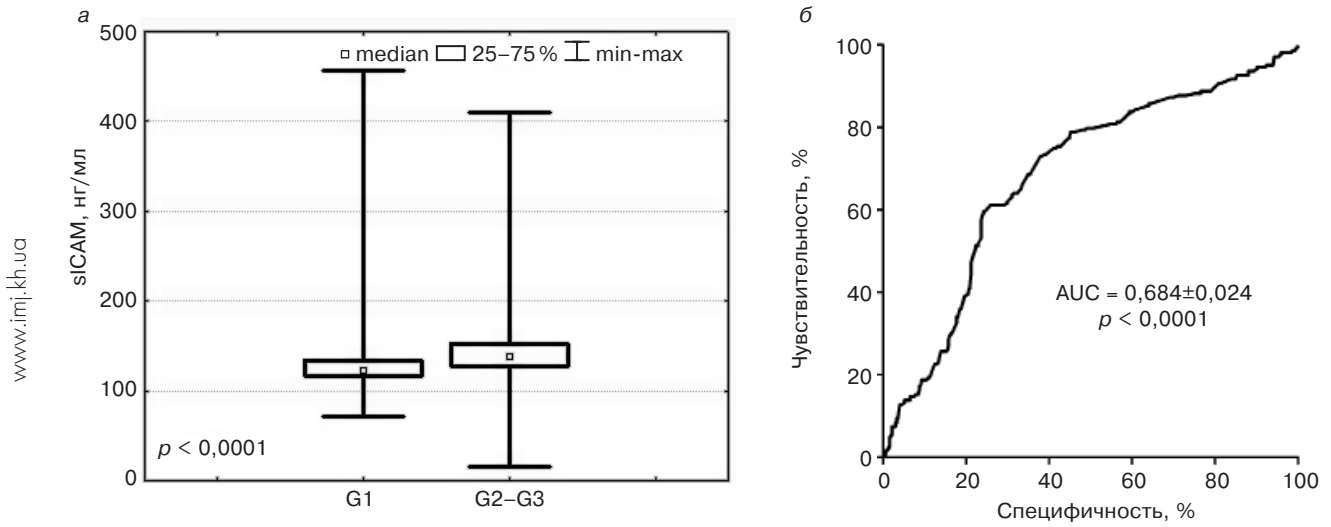


Рис. 5. Распределение содержания sICAM в группах G1, G2-G3 (а); ROC – кривая sICAM (ДЧ = 72,9%; ДС = 62,1%) (б)

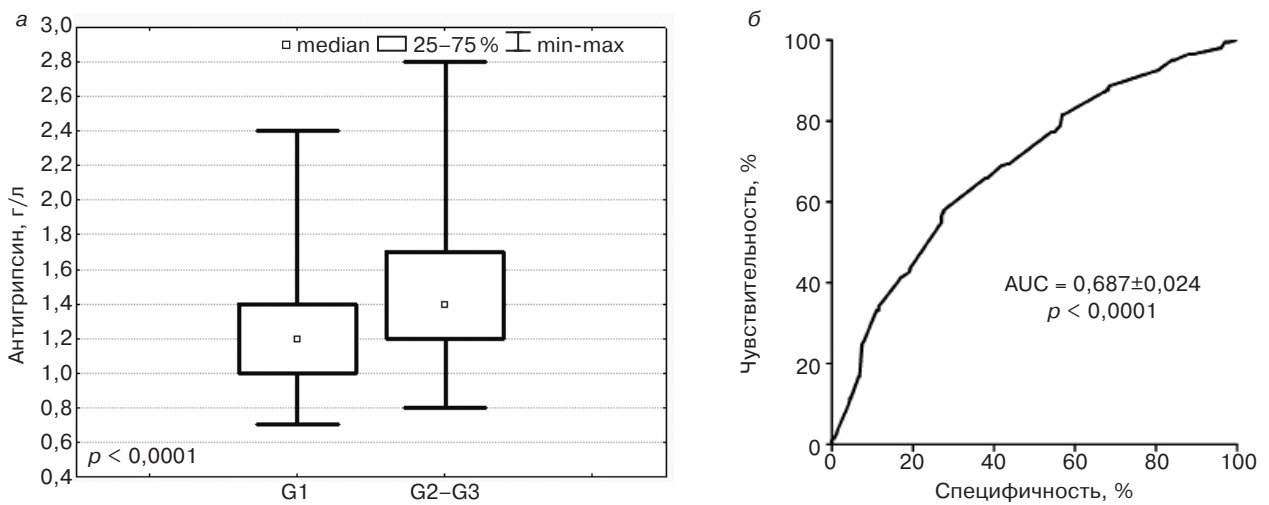


Рис. 6. Распределение содержания антитрипсина в группах G1, G2-G3 (а); ROC-кривая антитрипсина (ДЧ = 66,3 %; ДС = 61,0 %) (б)

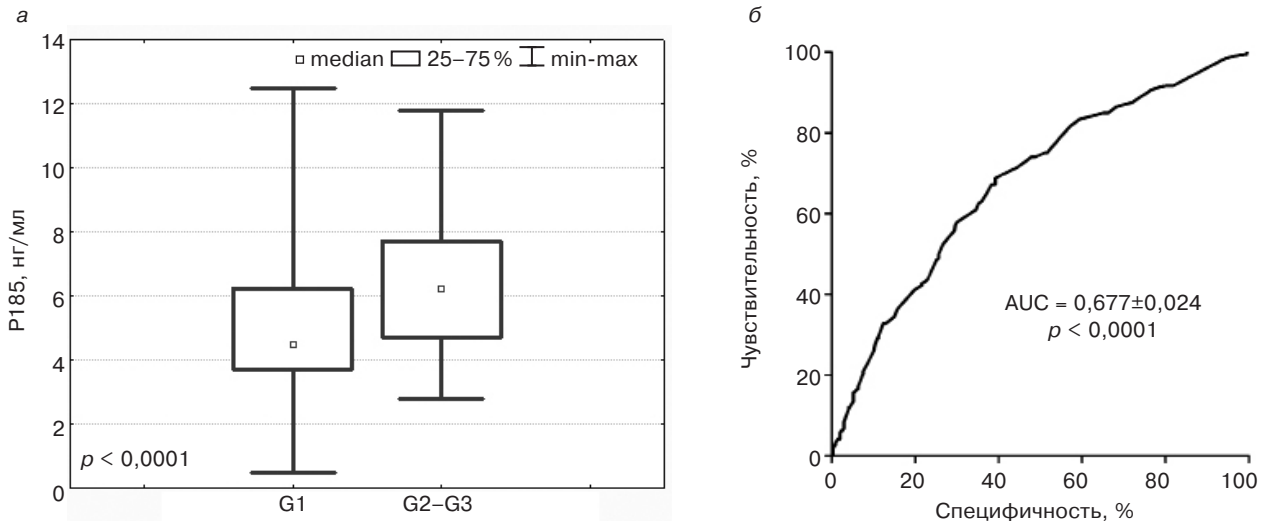


Рис. 7. Распределение содержания p185 в группах G1, G2–G3 (а); ROC-кривая p185 (ДЧ = 67,5%; ДС = 65,3%) (б)

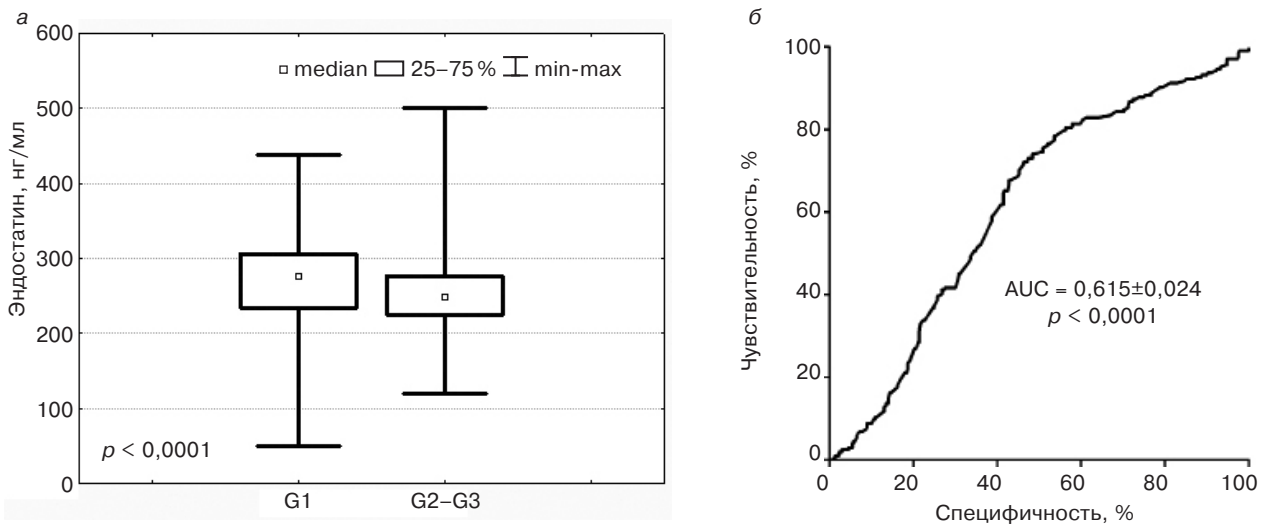


Рис. 8. Распределение содержания эндостатина в группах G1, G2–G3 (а); ROC-кривая эндостатина (ДЧ = 68,6%; ДС = 55,0%) (б)

ROC-кривых и определения площади под кривой AUC (Area Under Curve). Полученные данные представлены на рис. 1–8, где ДЧ – диагностическая чувствительность, ДС – диагностическая специфичность.

Как показано на рисунках, ни один из исследованных показателей не обладает достаточной чувствительностью и специфичностью для определения степени злокачественности опухоли у пациентов с немышечно-инвазивным РМП (чувствительность <math>< 80\%</math>, специфичность <math>< 70\%</math>).

Для повышения эффективности прогнозирования степени злокачественности опухоли использовали метод последовательной диагностической процедуры, основанный на теореме Байеса. В алгоритм включены все 8 показателей, коррелирующих с Grade, ранжированных по убывающей их информативности. Значения каждого лабораторного показателя разбиты на диапазоны и вычислены диагностические коэффициенты каждого

диапазона (таблица). Исходя из значений ошибки первого рода (ложноположительный результат), равной 0,01, и ошибки второго рода (ложноотрицательный результат), равной 0,05, рассчитаны пороговые значения суммы диагностических коэффициентов, равные +13 баллов и –20 баллов.

Для установления степени злокачественности РМП проводится поэтапное определение уровня лабораторных показателей в биологических жидкостях начиная с наиболее информативного. По достижении суммы диагностических коэффициентов порогового значения, равного условной величине +13 баллов, процедуру прерывают и утверждают, что у пациента опухоль с низкой степенью злокачественности (G1). При достижении суммой диагностических коэффициентов порогового значения, равного условной величине –20 баллов, говорят о наличии у пациента опухоли промежуточной или высокой степени злокачественности (G2 или G3).

Мера информативности и диагностические коэффициенты лабораторных показателей для определения степени злокачественности рака мочевого пузыря

Показатель	Диапазон	Диагностический коэффициент	Информативность диапазона	Информативность признака
VEGF, пг/мл	0–300	5,295	1,46	3,06
	300–500	–6,06,	1,55	
	> 500	–2,43	0,04	
p55, нг/мл	0–3,5	3,93	0,68	2,88
	3,5–5,0	–1,00	0,03	
	> 5,0	–4,07	0,57	
sPECAM, нг/мл	0–90	4,96	3,05	2,36
	90–110	2,67	0,43	
	> 110	–3,64	3,32	
NMP-22, Е/мл	0–20	3,32	0,38	2,33
	20–35	1,05	0,05	
	35–50	–5,94	0,73	
	> 50	–4,41	0,17	
sICAM, нг/мл	0–125	4,35	0,75	2,21
	125–240	–2,35	0,37	
	> 240	–5,21	0,09	
Антитрипсин, г/л	0–1,1	4,90	0,53	2,04
	1,1–1,5	0,34	0,01	
	> 1,5	–3,98	0,51	
p185, нг/мл	0–5	3,20	0,50	1,9
	5–10	–2,45	0,35	
	> 10	–3,75	0,05	
	7–9	1,94	0,23	
	> 9	–6,56	1,15	
Эндостатин, нг/мл	0–160	2,65	0,03	1,74
	160–270	–2,24	0,32	
	> 270	2,99	0,39	

www.imj.kh.ua

Если после исследования всех восьми показателей не достигается ни одно из пороговых значений, то делают заключение, что имеющейся информации недостаточно для принятия решения с намеченным уровнем ошибок.

Сопоставление результатов, полученных с использованием последовательной диагностической процедуры, с **данными гистологических исследований и клиники проводилось при переклассификации обучающей выборки (552 пациента, страдающих РМП). При использовании лабораторного алгоритма 302 (83,5%) пациента из 362 были правильно отнесены к группе с низкой степенью злокачественности, 135 (71,0%) больных из 190 – к группе с промежуточной или высокой степенью злокачественности.** Исходя из вышеизложенного, чувствительность метода составила 83,5%, специфичность – 71%.

Таким образом, современными методами проведено исследование широкого спектра лабораторных показателей в биологических жидкостях пациентов с **немышечно-инвазивным РМП с целью** оценки их значимости для определения степени злокачественности опухоли. Статистический анализ полученных результатов выявил восемь показателей, коррелирующих со степенью злокачественности опухоли, на основании которых был создан алгоритм лабораторного обследования, позволяющий прогнозировать степень злокачественности опухоли еще на дооперационном этапе. С помощью такого алгоритма клиницисты смогут давать адекватную оценку риска развития рецидива или прогрессирования заболевания у пациентов, страдающих РМП, еще на дооперационном этапе и применять дифференцированный лечебный подход.

Список литературы

1. *Океанов А. Е.* Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь 2002–2011 / А. Е. Океанов, П. И. Мосеев, Л. Ф. Левин; под ред. О. Г. Суконко.— Минск: РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, 2012.— 333 с.
2. Роль выполнения повторной трансуретральной резекции в лечении больных раком мочевого пузыря без мышечной инвазии / *А. И. Ролевич, О. Г. Суконко, С. А. Красный* [и др.] // Онкоурология.— 2010.— № 1.— С. 59–64.
3. Guideline for the management of nonmuscle invasive bladder cancer (stages Ta, T1 and Tis): 2007 update / C. Hall, S. Chang, G. Dalbagni [et al.] // J. Urol.— 2007.— Vol. 178.— P. 2314–2330.
4. *Аль-Шукри С. Х.* Общие принципы лечения больных раком мочевого пузыря. Значение клинических, гистологических и биологических факторов прогноза для выбора метода лечения / С. Х. Аль-Шукри, И. А. Корнеев // Практическая онкология.— 2003.— Т. 4, № 4.— С. 204–213.
5. Системная химиотерапия гемцитабином поверхностного рака мочевого пузыря с промежуточным и высоким риском рецидивирования / С. В. Мишугин, И. Э. Рыгин, М. А. Морозов [и др.] // Материалы IV конгресса Российского общества онкоурологов. 1–2 октября 2009 г., Москва.— М., 2009.— С. 105–106.
6. Молекулярно-генетические маркеры как факторы прогноза течения поверхностного рака мочевого пузыря / *А. Ю. Бабаян, С. В. Башкагов, О. Б. Карякин* [и др.] // Онкоурология.— 2009.— № 3.— С. 19–24.
7. *Давыдов М. И.* Молекулярные маркеры опухоли: стратегия лабораторных и клинических исследований / *М. И. Давыдов, Н. Е. Кушлинский* // Лабораторная медицина в свете концепции развития здравоохранения России до 2020 года: тр. науч.-практ. конф.— М.: Лабора, 2009.— С. 6–22.
8. Молекулярные маркеры в диагностике мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря / *П. В. Глыбочко, Н. К. Шахпазян, А. Н. Понукалин* [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика.— 2011.— № 5.— С. 16–20.
9. Регуляция ангиогенеза при злокачественных новообразованиях почки и мочевого пузыря / *Л. В. Спирина, И. В. Кондакова, Е. А. Усынин* [и др.] // Сибирский онкологический журн.— 2008.— Т. 28, № 4.— С. 65–70.
10. *Szarvas T.* Serum levels of angiogenic factors and their prognostic relevance in bladder cancer / T. Szarvas, T. Jäger, F. Droste // Pathol. Oncol. Res.— 2008.— Vol. 9.— P. 228–232.

ЛАБОРАТОРНІ ПОКАЗНИКИ ЯК ПРОГНОСТИЧНІ ФАКТОРИ СТУПЕНЯ ЗЛОЯКІСНОСТІ ПУХЛИНИ СЕЧОВОГО МІХУРА

Л. О. ДЕРЖАВЕЦЬ

Запропоновано алгоритм лабораторного обстеження пацієнтів, хворих на рак сечового міхура, що дозволяє прогнозувати ступінь злоякісності пухлини ще на доопераційному етапі. Це дасть змогу клініцистам здійснювати адекватну оцінку ризику розвитку рецидиву або прогресування захворювання і застосовувати диференційований лікувальний підхід.

Ключові слова: рак сечового міхура, лабораторні показники, біологічні рідини.

LABORATORY PARAMETERS AS PREDICTORS OF BLADDER TUMOR MALIGNANCY GRADE

L. A. DERZHAVETS

The algorithm of laboratory evaluation of patients with bladder cancer allowing to predict the degree of malignancy of the tumor before the surgery was suggested. This can allow clinicians to carry out an adequate assessment of the risk of recurrence or progression of the disease and to apply a differentiated therapeutic approach.

Key words: bladder cancer, laboratory findings, biological fluids.

Поступила 05.12.2012