

При развитии печеночно-клеточной недостаточности на фоне цирроза печени отмечено также повышение уровня ИЛ-6. Статистически значимые различия выявлены у пациентов с

тяжелой степенью печеночно-клеточной недостаточности, когда уровень цитокина достиг 25,8 [12,8; 39,3] пг/мл ($p = 0,0014$; критерий Краскела-Уоллиса, $N = 15,6$) (рисунок 4).

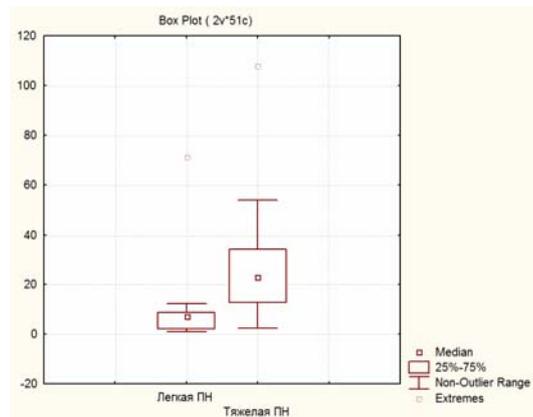


Рисунок 4 – Значения концентрации ИЛ-6 в крови пациентов с циррозом печени с явлениями печеночной недостаточности

Заключение

Таким образом, на фоне снижения компенсации функции печени и прогрессирования цирроза печени и портальной гипертензии с развитием асцита, варикозного расширения вен пищевода с угрозой кровотечения, а также при развитии тяжелой печеночной недостаточности в крови пациентов отмечено статистически значимое повышение уровня концентрации интерлейкина-6, что может служить основанием для использования данного показателя в качестве дополнительного критерия, определяющего степень тяжести цирроза печени и декомпенсации портальной гипертензии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ивашкин, В. Т. Осложнения портальной гипертензии при циррозе печени / В. Т. Ивашкин // Российский физиологический журнал. — 2009. — № 10. — С. 74–76.

2. Симбирцев, А. С. Цитокины: классификация и биологические функции / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 2. — С. 16–22.

3. Iwakiri, Y. The hyperdynamic circulation of chronic liver diseases: from the patient to the molecule / Y. I. Wakiri, R. J. Groszmann // Hepatology. — 2006. — Vol. 43, Suppl. 1. — P. 122–130.

4. Chen, T. A. Effect of intravenous albumin on endotoxin removal, cytokines, and nitric oxide production in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis / T. A. Chen, T. Y. Csoo, T. A. Chen // Scand. J. Gastroenterol. — 2009. — Vol. 44, № 5. — P. 619–625.

5. Кужош, М. В. Современные серологические маркеры острого панкреатита / М. В. Кукош, М. С. Петров, Н. В. Емельянов // Нижегородский медицинский журнал. — 2003. — № 3–4. — С. 25–27.

6. La Villa, G. Hemodynamic alterations in liver cirrhosis / G. La Villa, P. Gentilini // Mol. Aspects Med. — 2008. — Vol. 29. — P. 113–119.

7. Интерлейкин – 6 и оксид азота в патогенезе портальной гипертензии и декомпенсации цирроза печени / Г. К. Мироджанов [и др.] // Клиническая медицина. — 2012. — № 1. — С. 47–53.

8. Köksal, A. S. Clinical features, serum interleukin-6, and interferon-gamma levels of 34 Turkish patients with hepatoportal sclerosis / A. S. Köksal, S. Köklü, M. İbici // Dig. Dis. Sci. — 2007. — Vol. 52, № 12. — P. 3494–3497.

Поступила 02.12.2016

УДК 618.14-006:616-076-091.8-037:311.2

МОДЕЛИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИСХОДОВ ЭНДОМЕТРИОИДНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ТЕЛА МАТКИ

Д. А. Зиновкин, Э. А. Надыров

Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель

Цель: создать математическую модель прогноза эндометриоидной аденокарциномы тела матки I–III ст. Материалы и методы. В обучающую группу было включено 60 пациенток, в проверочную — 40. Клиническое течение заболевания у каждой пациентки отслеживали, используя данные Белорусского Канцер-регистра. Предикторы, оказавшие значимое ($p < 0,05$) влияние на выживаемость, были выбраны методом многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса.

Результаты. Среди всех изученных морфологических и иммуногистохимических параметров эндометриоидной аденокарциномы только 4: площадь сосудов, экспрессия CD3-лимфоцитов, дендритических клеток (S100) и экспрессия сосудистого фактора роста (VEGF) — являлись предикторами неблагоприятного клинического исхода заболевания.

Заключение. Результаты проведенного исследования дают возможность отнести пациенток к группам с хорошей или низкой выживаемостью с диагностической точностью 92,5%.

Ключевые слова: эндометриоидная аденокарцинома, прогноз, выживаемость.

THE MODELING OF CLINICAL OUTCOMES IN PATIENTS WITH ENDOMETRIOID ENDOMETRIAL ADENOCARCINOMA OF THE UTERINE BODY

D. A. Zinovkin, E. A. Nadyrov

Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel

Objective: to create a mathematical model of prognosis of endometrial adenocarcinoma of the uterine body I–III stages.

Material and methods. The training group included 60 patients, the screening one — 40. The clinical course of the disease in each female patient was monitored using data of the Belarusian Cancer Registry. Predictors that had a significant ($p < 0.05$) effect on the survival rate were selected by multivariable regression analysis of Cox's proportional hazards.

Results. Among all the studied morphological and immunohistochemical parameters of endometrioid adenocarcinoma only 4 were predictors of adverse clinical outcomes of the disease: vascular area, expression of CD3-lymphocytes, dendritic cells (S100), and the expression of vascular growth factor (VEGF).

Conclusion. The results of this study give an opportunity to put the female patients into groups with high or low survival rate with the diagnostic accuracy of 92.5 %.

Key words: endometrioid adenocarcinoma, prognosis, survival rate.

Введение

Одной из первостепенных задач в терапии опухолей женской репродуктивной системы является определение индивидуального прогноза течения заболевания. Факторы прогноза определяют выбор тактики дальнейшей терапии и диспансерного наблюдения, что позволяет значительно улучшить показатели выживаемости. В настоящее время в публикациях отечественных и зарубежных авторов представлено большое количество способов прогнозирования течения эндометриодной аденокарциномы (ЭА) тела матки с использованием различных клинических, морфологических и иммуногистохимических факторов [1-5]. Определена прогностическая значимость таких факторов, как инвазия опухоли в шейку матки, степень злокачественности, гистологический тип карциномы, лимфоидная инфильтрация окружающих тканей, количество пораженных метастазами лимфатических узлов, наличие опухолевых эмболов в кровеносных и лимфатических сосудах, экспрессия в опухолевых структурах онкопротеина p53, маркера пролиферации Ki-67, HER2/neu, CD44, Progesteronereceptor, Estrogenreceptor, VEGF и других [6–9].

Однако на сегодняшний день отсутствует математически обоснованное прогнозирование исходов заболевания при сочетаниях стромально-сосудистых морфологических и иммуногистохимических маркеров ЭА.

Цель исследования

Создать математическую модель прогноза ЭА тела матки I–III ст.

Материал и методы

Для исследований была определена выборка из 100 пациенток с ЭА тела матки I–III стадии. Тренировочная группа составила 60 случаев. Контрольная группа пациенток, использованная для проверки работоспособности полученной модели, включала 40 пациенток. Пациенткам проводилось комплексное клиничко-лабораторное

обследование и лечение ЭА согласно стандартным протоколам, принятым в Республике Беларусь. Все пациенты в выборках были поровну разделены на 2 основные группы: с выживаемостью до 3 лет и с выживаемостью более 3 лет.

Для гистологического исследования срезы с парафиновых блоков толщиной 4 мкм окрашивались гематоксилином и эозином по традиционной методике. Иммуногистохимическое исследование срезов тканей опухоли проводилось с использованием моноклональных и поликлональных антител производства корпорации «DAKO Cytomation» (Dako, Дания), применялся иммунопероксидазный метод. В качестве системы визуализации использовался набор LSAB+, в качестве хромогена — диаминобензидин (DAB+).

Для морфометрического исследования использовался аппаратно-программный комплекс Nikon (микроскоп Nikon Eclipse 50i с цифровой фотокамерой DS-F1) с программным обеспечением NIS-Elements. Микропрепараты фотографировали на увеличении $\times 12,5$, $\times 200$ и $\times 400$.

MELF-паттерн определяли в строме матки в участках инвазии ЭА. Выявлялось либо наличие, либо отсутствие фибропластической реакции стромы в 5 неперекрывающихся полях зрения при увеличении $\times 200$. Определение опухолевых сосудов микроциркуляторного русла проводили в местах с наибольшим числом капилляров («hot spots»), подсчитывая их число в 5 полях зрения, определяли количество и площадь сосудов в 1 мм^2 . Количество опухолевых эмболов подсчитывали в 5 полях зрения при увеличении $\times 400$, после чего пересчитывали в 1 мм^2 . Полученные результаты пересчитывали на 1 мм^2 площади ткани опухоли. Глубину инвазии определяли при увеличении $\times 12,5$, для чего 10-кратно измеряли толщину от края опухоли до адвентициальной оболочки, затем 10-кратно определяли глубину инвазии опухоли и высчитывали среднюю глубину инвазии опу-

холи в миометрий, которую выражали в процентном соотношении. Иммуногистохимические маркеры для определения опухоль-ассоциированных лимфоцитов, опухоль-ассоциированных макрофагов и дендритических клеток были выбраны в соответствии с рекомендациями, описанными в руководстве М. Shurinetal. «Tumor Immunoenvironment» [10]. Подсчет клеточных элементов иммунной реакции на новообразование с экспрессией CD3, CD20, CD57, CD68, S100 проводили в прилегающей к опухоли строме в 5 случайных полях зрения при увеличении $\times 400$, исходя из процента окрашенных клеток. Оценка экспрессии VEGF в опухолевых клетках проводилась в 5 случайных полях зрения при увеличении микроскопа $\times 400$, исходя из процента окрашенных эпителиальных клеток, учитывалась распространенность и интенсивность иммуногистохимической реакции,

результат выражался в проценте позитивных эпителиальных клеток.

Предикторы, оказавшие значимое ($p < 0,05$) влияние или устойчивую тенденцию ($p < 0,1$) на выживаемость, были выбраны методом многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса. Для математического моделирования исходов заболевания использовался пакет прикладных программ «Medcalc», 11.5 (trialversion).

Результаты и обсуждение

Было установлено, что из предложенных 11 предикторов: глубины инвазии, площади и количества сосудов, MELF-паттерна, CD3, CD20, CD57, CD68, S100, VEGF — вклад в прогнозирование риска развития неблагоприятного исхода заболевания вносили только 4 переменные, которыми являлись: площадь сосудов, экспрессия CD3, S100 и VEGF. (таблица 1).

Таблица 1 — Переменные, включенные в уравнение, у пациенток с эндометриоидной аденокарциномой тела матки

Шаг	Критерий	В	Стандартная ошибка	Вальд	Степени свободы	р	Exp (В)	95% ДИ для Exp (В)	
								нижняя	верхняя
1	Площадь сосудов в 1 мм ²	0,001	0,0001	34,535	1	0,0001	1,001	1,001	1,002
2	Площадь сосудов в 1 мм ²	0,001	0,0001	34,356	1	0,0001	1,001	1,001	1,002
	Экспрессия S100	0,045	0,015	9,588	1	0,002	1,046	1,017	1,077
3	Площадь сосудов в 1 мм ²	0,001	0,0001	8,832	1	0,003	1,001	1,000	1,002
	Экспрессия S100	0,063	0,018	12,896	1	0,0001	1,065	1,029	1,102
	Экспрессия VEGF	0,053	0,018	8,950	1	0,003	1,054	1,018	1,091
4	Площадь сосудов в 1 мм ²	0,001	0,0001	6,018	1	0,014	1,001	1,000	1,001
	Экспрессия S100	0,067	0,018	15,271	1	0,0001	1,069	1,034	1,105
	Экспрессия VEGF	0,055	0,018	9,531	1	0,002	1,056	1,020	1,093
	Экспрессия CD3	-0,047	0,020	5,538	1	0,019	0,954	0,917	1,105

Полученные коэффициенты регрессии были выбраны для расчета итогового значения функции. Пороговые точки итогового значения функции были определены с использованием ROC-анализа. Оптимальное пороговое значение,

позволяющее разделить пациентов на две группы, соответствовало значению 6,66 баллов. Площадь под кривой составила 0,938, что указывает на очень хорошую прогностическую значимость (рисунок 1).

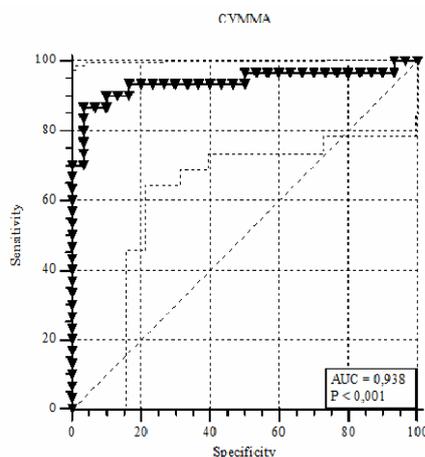


Рисунок 1 — Чувствительность и специфичность предлагаемой модели

Общая чувствительность модели на обучающей выборке составила 86,7 % (69,3–96,2 %), специфичность — 96,7 % (82,8–99,9 %).

В соответствии с полученными данными была предложена формула расчета относительного риска неблагоприятного прогноза ЭА в первые 3 года после выявления заболевания:

$$T = 0,001 \times S + (-0,047) \times CD3 + 0,064 \times S100 + 0,055 \times VEGF$$

где: T — сумма баллов, полученная при сложении всех значений предикторов; S — площадь сосудов в 1 мм² ткани опухоли; CD3 — CD3-позитивные Т-лимфоциты; S100 — S100-позитивные дендритические клетки; VEGF — экспрессия сосудистого фактора роста в эпителиальном компоненте ЭА.

Сумма баллов более 6,66 соответствовала 3-летней выживаемости, менее 6,66 — выживаемости более 3 лет.

На следующем этапе была проведена процедура проверки работоспособности полученной модели. В модель были включены 40 наблюдений пациенток с ЭА, не вошедших в обучающую выборку. По результатам расчетов из 17 пациенток с ЭА с низкой выживаемостью были определены корректно 16 (94,1 %) случаев. Из 23 пациенток с высокой выживаемостью правильно была определена у 21 (91,3 %). Диагностическая точность модели в экзаменационной выборке составила 92,5 %.

Использование метода многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса позволяет с одинаковой точностью проводить определение прогноза исхода заболевания, что является экономически обоснованным. Таким образом, на основании совокупности иммуногистохимических параметров нами был впервые апробирован оптимальный диагностический алгоритм с использованием модели, включающей четыре иммуногистохимических (CD34, CD3, S100, VEGF) параметра, позволяющий определять вероятность неблагоприятного исхода.

Данные факторы с точки зрения патогенеза роста ЭА являются одними из наиболее значимых. Опухоль-ассоциированные CD3+ Т-лимфоциты составляют основную популяцию иммунных клеток, инфильтрирующих злокачественные образования, и считаются необходимыми для эффективной элиминации малигнизированных клеток [11]. Дендритные клетки являются ключевыми эффекторами врожденного иммунитета и направления развития адаптации иммунной системы. По мнению А. Honigetal. (2005), в виду того, что опухоли часто прекращают экспрессировать все или несколько аллелей главного комплекса гистосовместимости I, опухоль-ассоциированные дендритные клетки играют определяющую роль в презентации ан-

тигенов и развитии Т-клеточного иммунного ответа [12]. По мнению ряда авторов, существует взаимосвязь между этими морфологическими и функциональными изменениями дендритических клеток и уровнем экспрессии VEGF и IL-10 [13].

Ангиогенез также является важным этапом в усилении клеточной пролиферации на стадии ее развития, ее последующей инвазии и метастазировании. На сегодняшний день VEGF является наиболее изученным промотором ангиогенеза, его экспрессия наблюдается как в нормальном эндометрии, так и в злокачественных новообразованиях тела матки. VEGF стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток, и более того, увеличивает сосудистую проницаемость [14–15].

Результаты проведенного исследования патогенетически обоснованно дают возможность отнести пациенток к группе с высокой или низкой выживаемостью с диагностической точностью 92,1 %. Полученные результаты позволяют выделять группы риска среди пациенток с ЭА тела матки.

Выводы

1. На основании иммуногистохимических и морфологических параметров были апробированы диагностические алгоритмы с применением метода многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса.

2. При использовании многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса для оценки риска прогрессирования онкологического заболевания была разработана модель, включающая 4 параметра: площадь сосудов в 1 мм² опухоли, экспрессия CD3, S100, VEGF. На основании многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса были определены коэффициенты регрессии каждого параметра, на основании которых была получена формула, с использованием 4 прогностических факторов.

3. Результаты проведенного исследования обеспечивают возможность отнести пациенток к группе с хорошей или низкой выживаемостью с диагностической точностью 92,5 %. Формула, полученная в нашем исследовании, позволяет выделять группы риска среди пациенток с ЭА тела матки, которым требуются более углубленное обследование и диспансерное наблюдение в послеоперационном периоде.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Early recurrence of early stage endometrioid endometrial carcinoma: possible etiologic pathways and management options / C. Iavazzo [et al.] // *Maturitas*. — 2014. — Vol. 78, № 3. — P. 155–159.
2. Prognostic significance of overexpression of p53 in uterine endometrioid adenocarcinomas with an analysis of nuclear grade / R. Urabe [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* — 2014. — Vol. 40, № 3. — P. 812–819.
3. Expression of estrogen receptor, progesterone receptor, and Her-2/ neu in primary and extra-corporeal endometrial cancer /

- S. Tangjitgamol [et al.] // *Histol. Histopathol.* — 2013. — Vol. 28, № 6. — P. 787–794.
4. Trends in endometrial cancer incidence by race and histology with a correction for the prevalence of hysterectomy, SEER 1992 to 2008 / P. M. Jamison [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2013. — Vol. 22, № 2. — P. 233–241.
 5. Lymphadenectomy for the management of endometrial cancer / K. May [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* — 2010. — Vol. 20, № 1. — P. 75–85.
 6. Comparison of outcomes in patients with early-stage mucinous endometrial cancer and those with endometrioid endometrial cancer, with and without adjuvant therapy / S. Owusu-Darko [et al.] // *J. Reprod. Med.* — 2014. — Vol. 59. — P. 527–533.
 7. Stewart, C. J. Galectin-3 expression in uterine endometrioid adenocarcinoma: comparison of staining in conventional tumor glands and in areas of MELF pattern myometrial invasion / C. J. Stewart, M. L. Crook // *Int. J. Gynecol. Pathol.* — 2010. — Vol. 29, № 6. — P. 555–561.
 8. The pattern of myometrial invasion as a predictor of lymph node metastasis or extrauterine disease in low-grade endometrial carcinoma / E. Euscher [et al.] // *Am J SurgPathol.* — 2013. — Vol. 37, № 11. — P. 1728–1736.
 9. Redefining stage I endometrial cancer: incorporating histology, a binary grading system, myometrial invasion, and lymph node assessment / J. N. Barlin [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* — 2013. — Vol. 23, № 9. — P. 1620–1628.
 10. Shurin, M. R. *The Tumor Immunoenvironment* / M. R. Shurin, V. Umansky, A. Malyguine. — New York: Springer, 2013. — P. 19–125.
 11. Tumor-infiltration of T-lymphocytes is inversely correlated with clinicopathologic factors in endometrial adenocarcinoma / I. K. Jung [et al.] // *Obstet. Gynecol. Sci.* — 2014. — Vol. 57, № 4. — P. 266–273.
 12. S100 as an immunohistochemically-detected marker with prognostic significance in endometrial carcinoma / A. Honig [et al.] // *Anticancer Res.* — 2005. — Vol. 25, № 3A. — P. 1747–1753.
 13. Tumor-infiltrating dendritic cells may be used as clinicopathologic prognostic factors in endometrial carcinoma / Z. Lijun [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* — 2012. — Vol. 22, № 5. — P. 836–841.
 14. Schmid, B. C. Improvements in progression-free and overall survival due to the use of anti-angiogenic agents in gynecologic cancers / B. C. Schmid, M. K. Oehler // *Curr. Treat. Options Oncol.* — 2015. — Vol. 16, № 1. — P. 318.
 15. Endoglin, VEGF, and its receptors in predicting metastases in endometrial carcinoma / S. K. Saarelainen [et al.] // *Tumour. Biol.* — 2014. — Vol. 35, № 5. — P. 4651–4657.

Поступила 21.11.2016