

А.В. ГИДРАНОВИЧ

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ОСНОВАНИИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ

УО «Витебский государственный медицинский университет»,

Республика Беларусь

Цель. Провести оценку прогностической значимости биохимических параметров сыворотки крови пациенток, страдающих раком молочной железы.

Материал и методы. Для создания модели обследованы 162 пациентки, страдающих раком молочной железы, 12 пациенток находящихся на диспансерном наблюдении по поводу излеченного рака молочной железы более 5 лет, 9 женщин с доброкачественными гиперпластическими заболеваниями молочной железы и 18 здоровых женщин соответствующего возраста. Результаты прогнозирования пятилетней выживаемости проверены на группе из 44 пациенток.

Результаты. Для отнесения пациентки к одной из прогностических групп предлагается использовать интерпретацию математического анализа комплекса биохимических параметров сыворотки крови, включающих уровень активности аутокринного фактора подвижности (AMF), концентрации холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), относительное содержание арахидоновой кислоты (C20:4), относительное содержание стеариновой кислоты (C18:0), концентрацию общего холестерина сыворотки крови (ХС). Для прогнозирования проводился расчет двух дискриминантных функций ДФ1 и ДФ2 с последующим отнесением пациентки к одной из групп риска. Прогноз выживания в течение пяти лет после установления диагноза для пациенток 1 группы риска составляет $79,8 \pm 5,5\%$, для пациенток 2 группы риска – $50,8 \pm 7,4\%$, пациенток 3 группы риска $10,4 \pm 5,6\%$

Упрощенный способ включает стратификацию риска гематогенного метастазирования на основании интерпретации активности AMF.

Заключение. Проведенное исследование позволило предложить новый метод прогнозирования исхода рака молочной железы и выявить неоднородность в клинически однородных группах и предложить способ прогнозирования исхода рака молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы, выживаемость, прогнозирование, биохимические показатели сыворотки крови

Objectives. To evaluate the prognostic significance of the serum biochemical indices in patients with breast cancer.

Methods. To design the model 162 patients suffering from the breast cancer have been examined, 12 of them with the cured breast cancer for more than 5 years were under the dispensary supervision; 9 females with benign hyperplastic breast diseases and 18 healthy women of corresponding age. The results of the 5-year survival prognosis were verified in the group consisting of 44 patients.

Results. To refer the patient to one of the prognostic groups one suggests to use the interpretation of the mathematics analysis of the complex of the blood serum biochemical indices, including autocrine motility factor (AMF), concentration of high density lipoproteins cholesterol (HDL CHOL), relative concentration of arachidonic acid (C20:4), stearic acid (C18:0), concentration of general serum cholesterol (CHOL). For prognosis two discriminant functions (DF1 and DF2) were calculated with further reference of a patient to one of the risk groups. 5-year survival prognosis after diagnosis has been made for the patients of the 1st risk group composes $79,8 \pm 5,5\%$, for the patients of the 2nd risk group – $50,8 \pm 7,4\%$, for the patients of the 3rd risk group – $10,4 \pm 5,6\%$.

A simplified method includes stratification of risk of hematogenic metastasis based on interpretation of AMF activity.

Conclusions. The performed research let to propose a new method for prognosis of breast cancer outcome and to reveal heterogeneity in clinically homogenous groups as well as to suggest the method to prognosticate the breast cancer outcome.

Keywords: breast cancer, survival, prognosis, biochemical indices of the blood serum

Novosti Khirurgii. 2012; Vol 20 (4): 64-69

Breast cancer outcome prognosis based on blood serum biochemical indices

A.V. Hidranovich

Введение

Прогнозирование исхода рака молочной железы (РМЖ) является приоритетной задачей диагностики, так как может определять тактику лечения РМЖ. Активная лечебная такти-

ка в группах повышенного риска в настоящее время позволяет улучшить результаты лечения и значительно увеличить выживаемость пациенток. Рутинные клинические методы не всегда позволяют адекватно определить распространенность рака молочной железы, а

ведущим фактором, определяющим диссеминацию опухолевого процесса является поражение подмышечных лимфатических узлов.

Результатом Международного консенсуса по лечению первичного рака молочной железы в 2011 году стало признание значительно полиморфизма генетических свойств рака молочной железы, проявляющихся в различии естественной истории и исходов этого заболевания, что потребовало выделения множества подгрупп рака молочной железы [1]. Этот факт говорит о недостаточной достоверности прогнозирования риска и необходимости дальнейшего поиска индикаторов агрессивности фенотипа опухоли.

Основными прогностическими факторами для рака молочной железы в настоящее время являются: размер опухоли [2], поражение подмышечных лимфатических узлов [3], показатели пролиферации: Ki-67 [4] или гистологическая степень дифференцировки опухоли [5], опухолевая инвазия сосудов [6], уровень uPA/PAI-1 [7], экспрессия стероидных рецепторов [8], амплификация гена и экспрессия белка ERBB2 [9], а также оценка генетического профиля 70 генов [10]. В качестве прогностических факторов предлагаются наличие эпителиальных клеток в периферической крови и костном мозге [11]. Различные мультигенные прогностические системы, основанные на методиках иммуногистохимии, флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (RT-PCR), микрочипов, наряду с положительными характеристиками имеют один большой недостаток, ограничивающий их широкое применение. Стоимость одного исследования в зависимости от метода может составлять не менее 100-400 долларов США и превышать 3500 долларов США [12].

Из используемых в настоящее время прогностических факторов только поражение подмышечных лимфатических узлов является объективным прогностическим фактором распространенности процесса, остальные факторы характеризуют генотип опухоли и с определенной вероятностью могут характеризовать степень агрессивности фенотипа.

Существует группа пациенток, получающих цитотоксическую терапию, которая, вероятно, мало определяет исход заболевания ввиду особенностей фенотипа опухоли. С другой стороны часть пациенток в группе низкого риска, не получает адъювантную терапию, назначение которой могло бы значительно увеличить их выживаемость, что говорит о недостаточном количестве факторов, учитываемых

для определения групп риска. [13]. Известные онкомаркеры рака молочной железы не обеспечивают достаточную достоверность прогнозирования исхода рака молочной железы, однако изучение метаболического бремени, проявляющееся не только уровнем опухолевых маркеров, но и их динамическими изменениями в процессе лечения, являются перспективными направлениями исследований, примером может являться изучение прогностических свойств СА 15-3 и СЕА [14, 15].

Прогресс микрометастазов определяется количеством опухолевых стволовых клеток, а также другими факторами, определяющими их размножение и развитие [16], изучение этих факторов и использование методик математического моделирования является вариантом поиска новых диагностических методов и способов стратификации риска прогресса рака молочной железы.

Цель. Провести оценку прогностической значимости биохимических параметров сыворотки крови пациенток, страдающих раком молочной железы.

Материал и методы

Для создания модели проведено клинико-лабораторное обследование 162 пациенток, страдающих раком молочной железы, 12 пациенток находящихся на диспансерном наблюдении по поводу излеченного рака молочной железы более 5 лет, 9 женщин с доброкачественными гиперпластическими заболеваниями молочной железы и 18 здоровых женщин соответствующего возраста. Был проведен дискриминантный анализ, логистическое моделирование и разработан способ прогнозирования исхода рака молочной железы, базирующийся на расчете дискриминантных функций биохимических показателей сыворотки крови (аутокринного фактора подвижности (AMF), играющего ключевую роль в инвазии и метастазировании рака [17], холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), арахидоновой кислоты, общего холестерина, стеариновой кислоты). Последующее сравнение значения дискриминантной функции с граничными показателями позволило отнести пациентку к определенной группе риска. Результаты лечения изучены у 44 пациенток, отнесенных на основании разработанного алгоритма к одной из прогностических групп, оценен показатель пятилетней выживаемости в группах по методу Каплана-Мейера, статистическую значимость различий в группах проверяли с использованием метода Гехана-Вилкоксона. Для прове-

Таблица

**Стандартизированные и нестандартизированные коэффициенты
для каждой вошедшей в ДФ переменной**

Показатели	Стандартизированные коэффициенты		Нестандартизированные коэффициенты	
	Root 1	Root 2	Root 1	Root 2
AMF	-0,978	0,100	-0,013	0,001
C18:0	0,022	-0,737	0,011	-0,390
C20:4	0,424	0,126	0,123	0,037
ХСЛПВП	-0,442	0,010	-0,981	0,022
ХС	0,128	0,672	0,114	0,598
Константа			2,219	-3,071
Собственные значения	1,06	0,21	1,06	0,21

дения математического и статистического анализа использовались программные продукты OpenOffice, OpenStat, Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Произведено логистическое моделирование. Показатель AMF вошел в логистические модели всех стадий с граничным значением $\geq 167,2$ нмоль·с⁻¹·л⁻¹ для I–III стадий, и особенно высокое значение этого показателя было у пациенток с IV стадией рака молочной железы $\geq 462,8$ нмоль·с⁻¹·л⁻¹. Также все логистические модели включали показатель уровня глюкозы в крови с граничным значением $\leq 5,4$ ммоль/л для I–III стадий рака молочной железы и 4,9 ммоль/л для IV стадии рака молочной железы. Следовательно, наибольшее прогностическое значение имели повышение уровня AMF и снижение уровня глюкозы в крови.

Специфические признаки логистических моделей рака молочной железы были связаны с жирнокислотным спектром сыворотки крови, в логистическую модель были включены соотношение 20:3/20:4 с граничным условием $\leq 0,28$, уровень линолевой кислоты (18:2) с граничным значением $\geq 25,52$ и насыщенной жирной миристиновой кислоты (14:0) с граничным значением $\leq 1,69$, а также показатель содержания олеиновой кислоты (18:1) в сыворотке крови с граничным значением $\geq 18,14$.

Для выявления наиболее информативных биохимических прогностических факторов исхода РМЖ был использован метод пошагового дискриминантного анализа, который позволяет оценить не только каждый биохимический показатель в отдельности, но и его уникальный вклад в совокупности с остальными переменными.

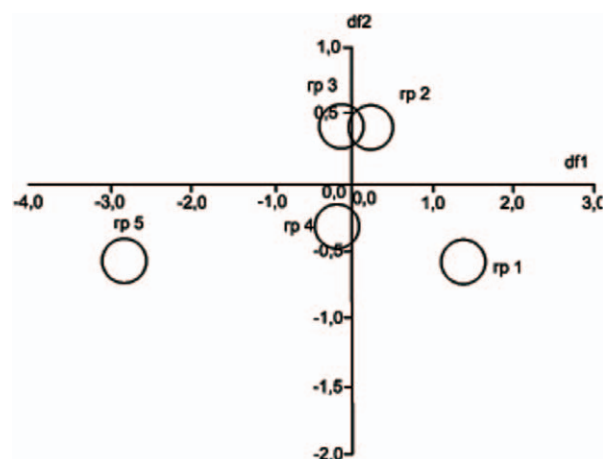
При проведении пошагового дискриминантного анализа были исключены статистически незначимые ($p > 0,05$) для дискриминантного уравнения предикторы, включающие

содержание в сыворотке крови: триацилглицеролов, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), общего белка, глюкозы, гаммаглутамилтрансферазы, лактатдегидрогеназы, миристиновой кислоты, пальмитиновой кислоты, олеиновой кислоты, линолевой кислоты, линоленовой кислоты, эйкозатриеновой кислоты и индекса Holman. В результате нами были выделены две статистически значимые дискриминантные функции (ДФ). Собственное значение (т.е. отношение межгрупповой суммы квадратов к внутригрупповой сумме квадратов) первой ДФ составило 1,06; коэффициент канонической корреляции 0,883 ($p < 0,001$); второй ДФ - 0,21; коэффициент канонической корреляции 0,679 ($p < 0,001$) (таблица).

На рисунке 1 показаны средние значения ДФ (центроиды) для здоровых лиц и пациентов, больных РМЖ. Первую ДФ использовали для оценки возможности применения модели, а вторую ДФ – для прогнозирования исхода заболевания.

Как известно, на относительный вклад отдельных дискриминантных переменных в значение каждой ДФ указывают стандарти-

Рис. 1. Результаты дискриминантного анализа биохимических показателей крови пациенток, страдающих раком молочной железы



зированные коэффициенты. Соответственно, чем больше стандартизированный коэффициент, тем больше вклад переменной. Наиболее информативными ($R > 0,4$) для первой дискриминантной функции были показатели AMF, ХС-ЛПВП, C20:4, для второй C18:0 и общий холестерол.

На основании средних значений показателей были рассчитаны граничные значения дискриминантов и установлен алгоритм (рис. 2) для прогнозирования исхода РМЖ (формулы 1, 2):

$$ДФ_1 = 2,219 - 0,013 \times AMF - 0,981 \times ХС \\ ЛПВП + 0,123 \times C20:4 \quad (1)$$

$$ДФ_2 = -3,071 - 0,390 \times C18:0 + 0,598 \times ХС \quad (2)$$

Выживаемость пациенток, страдающих раком молочной железы, рассчитана арктуральным методом на основе генеральной популяции.

Прогноз выживания в течение пяти лет после установления диагноза для пациенток 1 группы риска составляет $79,8 \pm 5,5\%$, для пациенток 2 группы риска — $50,8 \pm 7,4\%$, пациенток 3 группы риска $10,4 \pm 5,6\%$.

Процент правильного прогноза по предложенным $ДФ_1$ и $ДФ_2$ составил: для первой дискриминантной функции — 84%, для выделения 1 группы риска на основании $ДФ_2$ — 50%, для выделения 2 группы риска — 88%, 3 группы риска — 80%.

Эффективность доказана клинической оценкой методики. Способ прогнозирования был применен к группе пациенток, которым

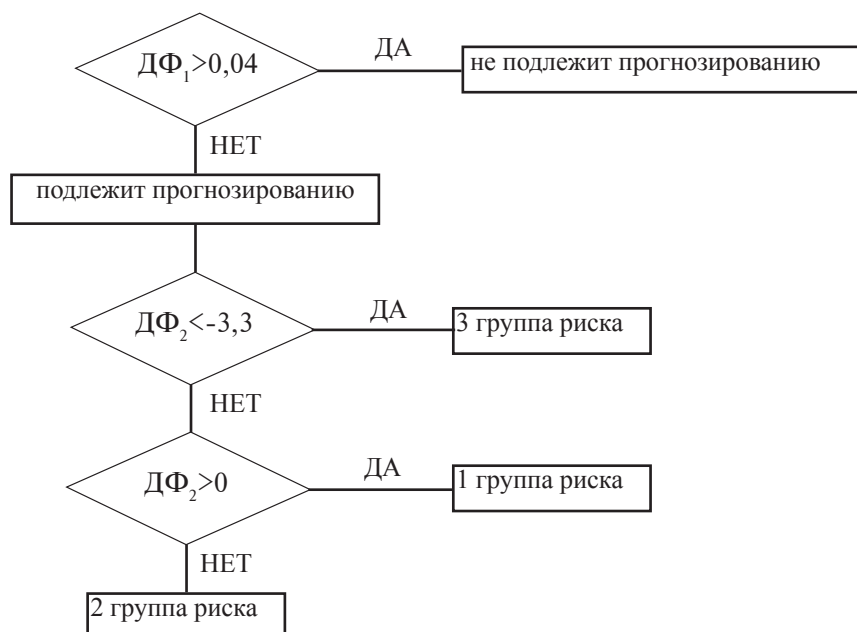
рак молочной железы был диагностирован 5 и более лет назад, и которые прошли на момент установления диагноза обследование, достаточное для прогнозирования, количество исследуемых женщин 44. К 1 группе риска были отнесены 28 пациенток, ко второй группе риска — 16 пациенток, к третьей группе риска пациентки отнесены не были.

В первой группе риска доля пациенток с I стадией РМЖ составила 36%, II стадией — 29%, III стадией — 21%, IV стадией — 14%. Гистологическая структура опухолей — аденокарцинома, grade 1 установлена в 19% случаев, grade 2 — в 50%, grade 3 — в 31%. 5-летняя выживаемость пациенток с I стадией РМЖ составила 90%, II — 75%, III — 50%, IV — 25%. Общая 5-летняя выживаемость в этой группе риска была 68%.

Во второй группе риска доля пациенток с I стадией РМЖ была 25%, II стадией — 31%, III стадией — 25%, IV стадией — 19%. Гистологическая структура опухолей — аденокарцинома, grade 1 в группе не установлена, grade 2 — в 77%, grade 3 — в 23%. 5-летняя выживаемость пациенток с I стадией РМЖ составила 75%, II — 80%, III — 25%, IV — 0%. Общая 5-летняя выживаемость во второй группе риска составила 53%.

Метод позволяет выявить неоднородность в клинически однородных группах. Выживаемость пациенток с I стадией рака молочной железы, относящихся к 1 группе риска, составляет 90%, а пациенток, относящихся ко 2 группе риска, — 75%. Еще большие статистические различия выявлены в группе пациен-

Рис. 2. Алгоритм прогнозирования исхода рака молочной железы



ток с III стадией РМЖ. Так 5-летняя выживаемость пациенток, отнесенных к 1 группе риска составляет 50%, ко 2 группе риска — 25%. В группе пациенток с IV стадией РМЖ, отнесенных к 1 группе риска 5-летняя выживаемость составляет 25%, ко 2 группе риска — 0%. Важно, что данные полностью не конвергируют со степенью дифференцировки опухоли, это свидетельствует о выявлении дополнительного патогенетического механизма прогнозирования агрессивности фенотипа опухоли на основании биохимических показателей сыворотки крови, отражающих метаболические взаимоотношения между опухолью и организмом.

Упрощенная методика оценки риска гематогенного метастазирования основана на определении всего одного показателя в сыворотке крови — активности аутокринного фактора подвижности.

Эффективность метода показана клинической оценкой. Методика прогнозирования применена в группе пациенток, страдающих раком молочной железы, количество исследуемых женщин 44. К 1 группе риска отнесены 9% пациенток, ко 2 группе риска — 73%, к 3 группе риска — 18%. 5-летняя выживаемость в 1 группе риска была 85%, во 2 группе риска — 64,5%, в 3 группе риска — 50%. 5-летняя выживаемость пациенток во 2 группе риска составила для пациенток с I стадией РМЖ — 83%, II стадией — 70%, III стадией — 37,5%, IV стадией — 50%.

Для выяснения, является ли активность АМФ в сыворотке крови до начала лечения фактором, определяющим выживаемость пациенток, были выделены 2 группы пациенток:

1 группа — пациентки, больные раком молочной железы, активность АМФ в сыворотке крови которых была меньше $155 \text{ нмоль} \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$ ($n=9$); в структуре групп пациенток с I стадией рака молочной железы было 55,6%, со II стадией — 33,3%, с III стадией — 11,1%.

2 группа — пациентки, больные раком молочной железы, активность АМФ в сыворотке крови которых была больше или равна $155 \text{ нмоль} \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$, ($n=28$); в структуре групп пациенток с I стадией рака молочной железы было 20,7%, со II стадией — 37,9%, с III стадией — 37,9%, с IV стадией — 3,5%.

Выживаемость в группах представлена на рисунке 3.

Выводы

1. Полученные результаты подчеркивают наличие метаболических отклонений в сыворотке крови пациенток с неметастатическим раком молочной железы, взаимосвязанных

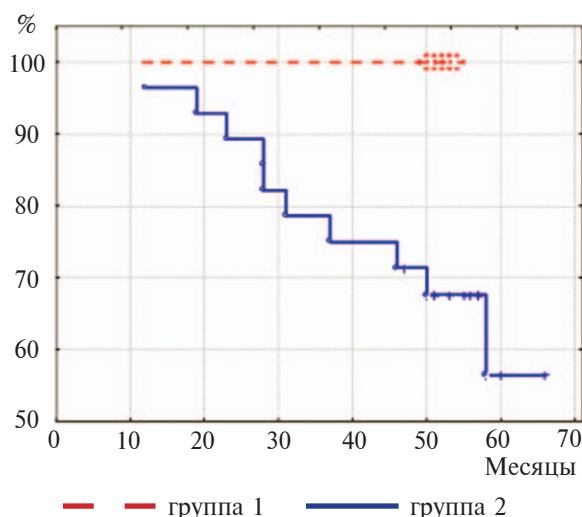


Рис. 3. Выживаемость пациенток, страдающих раком молочной железы, в зависимости от уровня активности АМФ сыворотки крови

с выживаемостью, что подчеркивает прогностическую вариабельность внутри клинически однородных исследуемых групп.

2. Биохимические параметры углеводного и липидного обменов, определяемые в сыворотке крови и отражающие механизмы взаимодействия опухоли и организма могут рассматриваться в качестве факторов прогноза исхода рака молочной железы.

3. Прогностически важными параметрами являются дискриминантные функции, основанные на интерпретации комплекса биохимических параметров сыворотки крови, включающих уровень активности аутокринного фактора подвижности (АМФ), концентрации холестерина липопротеинов высокой плотности, относительное содержание арахидоновой кислоты, относительное содержание стеариновой кислоты, концентрацию общего холестерина сыворотки крови.

4. Прогноз выживания в течение пяти лет после установления диагноза при значении ДФ_2 больше 0 составляет $79,8 \pm 5,5\%$, величина ДФ_2 больше — 3,3, но менее 0 определяет прогноз выживания, равный $50,8 \pm 7,4\%$, при значении ДФ_2 менее — 3,3, прогноз пятилетней выживаемости $10,4 \pm 5,6\%$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011 / A. Goldhirsch [et al.] // Ann Oncol. — 2011. — Vol. 22. — P. 1736–1747.
2. Page D. L. Prognosis and breast cancer. Recognition of lethal and favourable prognostic types / D. L. Page // Am J Surg Pathol. — 1991. — N 15. — P. 334–349.

3. Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow-up of 18 years / P. P. Rosen [et al.] // J Clin Oncol. — 1989. — N 7. — P. 1239–1251.
4. Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer Working Group / M. Dowsett [et al.] // J Natl Cancer Inst. — 2011. — Vol. 103, N 22. — P. 1656–1664.
5. Elston C. W. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up / C. W. Elston, I. O. Ellis // Histopathology. — 1991. — N 19. — P. 403–410.
6. Obvious peritumoural emboli: an elusive prognostic factor reappraised. Multivariate analysis of 1320 node-negative breast cancers / I. de Mascarel [et al.] // Eur J Cancer. — 1998. — Vol. 34. — P. 58–65.
7. Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (n = 3424) / N. Harbeck [et al.] // Cancer Res. — 2002. — Vol. 62. — P. 4617–4622.
8. Page D. L. Prognosis and breast cancer. Recognition of lethal and favourable prognostic types / D. L. Page // Am J Surg Pathol. — 1991. — N 15. — P. 334–349.
9. Yamauchi H. When is a tumour marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer / H. Yamauchi, V. Stearns, D. F. Hayes // J Clin Oncol. — 2001. — N 19. — P. 2334–2356.
10. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer / M. J. Van De Vijver [et al.] // N Engl J Med. — 2002. — Vol. 347. — P. 1999–2009.
11. Detection of isolated tumour cells in bone marrow is an independent prognostic factor in breast cancer / G. Wiedswang [et al.] // J Clin Oncol. — 2003. — N 21. — P. 3469–3478.
12. Commercialized Multigene Predictors of Clinical Outcome for Breast Cancer / J. S. Ross [et al.] // Oncologist. — 2008. — Vol. 13, N 5. — P. 477–493.
13. Cianfrocca M. Prognostic and Predictive Factors in Early-Stage Breast Cancer / M. Cianfrocca, L. J. Goldstein // Oncologist. — 2004. — Vol. 9, N 6. — P. 606–616.
14. Preoperative CA 15-3 and CEA serum levels as predictor for breast cancer outcomes / B. W. Park [et al.] // Ann Oncol. — 2008. — Vol. 19, N 4. — P. 675–681.
15. Keyhani M. Serum Ca15-3 Measurement In Breast Cancer Patients Before And After Mastectomy / M. Keyhani, S. Nasizadeh, A. Dehghannejad // Arch Iranian Med. — 2005. — Vol. 8, N 4. — P. 263–266.
16. Catanzaro P. J. Evolution of sub-clinical metastases in breast cancer / P. J. Catanzaro // J Clin Oncol. — 2008. — Vol. 26. — Abstr. 12024.
17. Phosphoglucose Isomerase / Autocrine Motility Factor mediates epithelial-mesenchymal transition regulated by miR-200 in breast cancer cells / A. Ahmad [et al.] // Cancer Res. — 2011. — Vol. 71, N 9. — P. 3400–3409.

Адрес для корреспонденции

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, д. 27,
УО «Витебский государственный
медицинский университет»,
кафедра онкологии
с курсами лучевой диагностики,
терапии, ФПК и ПК,
тел. раб.: +375 212 22-64-16,
e-mail: hidranovich@mail.ru,
Гидранович Антон Викторович

Сведения об авторах

Гидранович А.В., ассистент кафедры онкологии
с курсами лучевой диагностики, терапии, ФПК и

ПК УО «Витебский государственный медицинский
университет».

Поступила 29.05.2012 г.