

Принькова Т.Ю.¹, Прохорова В.И.², Цырусъ Т.П.², Колядко Н.Н.², Таганович А.Д.¹

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Значение исследования показателей оценки гемостатического потенциала крови (фибриногена, фактора Виллебранда и D-димеров) как потенциальных лабораторных критериев распространенности и дифференцировки опухоли при раке тела матки

УДК 618.14-006.6-005.1-08

Резюме

В крови 57 пациенток, страдающих РТМ, и 16 клинически здоровых лиц были определены факторы гемокоагуляции. Установлено, что концентрация фибриногена, фактора Виллебранда (ФВ) и D-димеров увеличена в крови пациентов, страдающих РТМ, по сравнению с аналогичными значениями у клинически здоровых лиц. Выявлена тенденция к возрастанию уровня фибриногена и ФВ по мере распространения опухолевого процесса. Между концентрацией ФВ и степенью злокачественности опухоли обнаружена умеренная прямая корреляционная связь. Установленные изменения показателей исследованных лабораторных тестов могут быть использованы для диагностики стадии канцерогенеза и степени злокачественности опухоли при РТМ.

Ключевые слова: рак тела матки, гемостаз, фибриноген, фактор Виллебранда, D-димеры.

ВВЕДЕНИЕ

Рак тела матки (РТМ) занимает первое место в мире по частоте среди злокачественных новообразований женских половых органов. Ежегодно в мире регистрируется свыше 140 000 новых случаев. При этом в большинстве стран наблюдается неуклонный рост заболеваемости [1].

В последнее время активно ведется поиск предикторов неблагоприятного течения РТМ, позволяющих судить о степени агрессивности опухоли на дооперационном этапе. Изучаются раковые антигены, факторы роста, молекулы клеточной адгезии, цитокины, хемокины, гормоны и другие белки [2, 3]. Однако до сих пор не существует надежного

теста, позволяющего выявить пациентов, страдающих РТМ, с неблагоприятным прогнозом, поскольку ни один из показателей в отдельности не обладает достаточной диагностической чувствительностью и специфичностью. Есть основания полагать, что использование маркеров в совокупности существенно повышает их диагностическую ценность. Большое значение в этом подходе имеет ранжирование показателей крови или изучение их с точки зрения информативности. На основе ранговой совокупности в дальнейшем возможно выявление оптимальной комбинации опухолевых маркеров, максимально коррелирующих со стадией и степенью дифференцировки опухоли у пациентов, страдающих РТМ.

Одной из вероятных причин прогрессирования рака является нарушение свертывания крови [4]. Согласно современным научным данным у онкологических больных наблюдается дисбаланс в коагуляционной системе, проявляющийся в активации системы свертывания крови [5]. Активация системы гемостаза сопровождается появлением в кровотоке специфических маркеров, отражающих степень повышения гемостатического потенциала крови, таких как фибриноген, D-димеры, фактор Виллебранда (ФВ) и др.

Содержание фибриногена увеличивается в ответ на воспаление и повреждение тканей. Он принимает непосредственное участие в адгезии и агрегации тромбоцитов с опухолевыми клетками, способствуя формированию тромбоцитарно-опухолевых агрегатов, а следовательно, и прогрессированию онкологического заболевания при гематогенном распространении этих агрегатов [6, 7].

D-димеры образуются при распаде поперечно-сшитых молекул фибрина с участием пламина. Повышение D-димеров указывает на активацию фибринолиза, чему обязательно предшествует тромбинемия и избыточное образование нерастворимого фибрина.

Дисфункция сосудистого эндотелия, возникающая под воздействием сочетанного влияния опухолевых метаболитов и провоспалительных цитокинов, приводит к ослаблению антикоагулянтного потенциала сосудистой стенки, что является предпосылкой усиления тромбогенеза у пациентов, страдающих раком. О дисфункции эндотелия свидетельствует увеличение уровня фактора Виллебранда в плазме крови, что связано с его выходом из секреторных гранул эндотелиальных клеток сосудов. ФВ, также как и фибриноген, относится к белкам острой фазы и является достаточно специфичным маркером повреждения сосудистой стенки. Увеличение его в плазме крови указывает на активацию гемостатических процессов [8].

Изучение ряда компонентов системы гемостаза проводилось у онкологических больных. Оказалось, что повышение уровня фибриногена, ФВ, D-димеров, показателей системы фибринолиза ассоциировано с прогрессирующим болезнью, гистологическим типом, отдаленными метастазами, плотностью микрососудистой сети, неблагоприятным прогнозом при раке яичников [9], желудка [10], легких [11], молочной железы [9, 12]. Обнаружена связь концентрации D-димеров, фибринопептида А, ФВ со стадией и размером опухоли при раке шейки матки, но не со степенью дифференцировки [13].

Имеющиеся в литературе данные о прогностической ценности показателей системы свертывания крови при РТМ немногочисленны, разрозненны, носят преимущественно экспериментальный характер [9, 14–15]. Отсутствуют сведения, касающиеся взаимосвязи данных показателей со степенью дифференцировки опухоли и ее местным распространением, не сформирована клиничко-лабораторная концепция их использования в клинической онкологии.

Для ответа на вопрос, действительно ли показатели системы гемостаза могут являться предикторами опухолевого процесса при РТМ, требуется их детальное исследование при различных стадиях рака с учетом специфических опухолевых антигенов и гистологической верификации опухоли. Последующий многофакторный анализ позволит оценить их информативность и значимость для включения в прогностическую модель распознавания пациентов, страдающих распространенным РТМ, на дооперационном этапе.

ЦЕЛЬ

Изучить концентрации фибриногена, D-димеров и фактора Виллебранда в крови пациентов, страдающих раком тела матки, для оценки возможности отбора этих показателей в качестве предикторов распространенности и степени дифференцировки опухоли при данном онкологическом заболевании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служила плазма крови 57 пациентов с диагнозом «Рак тела матки». Заключительный диагноз выставлялся после гистологического подтверждения злокачественного процесса. Группу контроля составили 16 женщин без онкологической патологии в анамнезе. Возраст пациентов колебался в пределах от 29 до 80 лет (медиана – 59 лет), в контрольной группе – 38–71 лет (медиана – 57 лет).

Распространенность опухолевого процесса определяли в соответствии с Международной классификацией злокачественных опухолей по системе TNM. Контингент пациентов, страдающих РТМ, имел следующее распределение по стадиям:

IA (T1a N0 M0) – 28%;

IB (T1b N0 M0) – 49,1%;

IC (T1c N0 M0) – 14%;

IIA (T2a N0 M0) – 3,5%;

IIB (T2b N0 M0) – 3,5%;

IIIA (T3a N0 M0) – 1,8%.

Пациенты, страдающие РТМ, были разделены на группы в зависимости от распространенности опухолевого процесса и степени дифференцировки опухоли по гистопатологической градации. В них вошли пациенты с I стадией (n = 51), II–III стадиями РТМ (n = 6), с высокой (G1 – grade 1) (n = 25), умеренной (G2 – grade2) (n = 26) и низкой (G3 – grade 3) (n = 6) степенью дифференцировки опухоли.

У всех пациентов, страдающих РТМ, до начала лечения определяли в крови содержание ФВ, фибриногена и D-димеров с использованием автоматического анализатора STA Compact (Roche, Швейцария).

Содержание фибриногена определяли хронометрическим методом по Clauss, который основан на измерении времени свертывания разбавленной цитратной плазмы в присутствии избытка тромбина.

Уровень ФВ и D-димеров определяли иммунотурбидиметрическим методом. Принцип метода основан на использовании частиц латекса, покрытых специфическими моноклональными антителами, которые агглютинируют в присутствии соответствующих антигенов (ФВ и D-димеров), вызывая изменение светорассеяния. Регистрируемая оптическая плотность зависит от концентрации данных факторов в пробе.

Результаты исследований обработаны непараметрическими методами с помощью программы «Statistica 8.0». Данные представлены в виде медиан и интерквартильных размахов. Оценку достоверности различий между независимыми группами проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Для изучения связей между переменными вычисляли коэффициент корреляции Спирмена. Критическое значение уровня значимости принимали как равное 5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования установлено, что в крови пациентов, страдающих РТМ, наблюдается существенное увеличение значений показателей гемостазиограммы (табл. 1).

Таблица 1**Концентрация компонентов гемостаза у пациентов, страдающих раком тела матки**

Исследуемый показатель, единицы измерения	Группы сравнения		Уровень значимости, p
	Контрольная группа, n = 16	Пациенты, страдающие РТМ, n = 57	
Фибриноген, г/л	2,29 (1,95; 2,58)	3,28 (2,93; 3,87)	0,000016
Фактор Виллебранда (ФВ), %	65,5 (48,0; 97,0)	134,0 (104,0; 187,0)	0,000280
D-димеры, мг/л	0,26 (0,15; 0,37)	0,39 (0,26; 0,55)	0,022789

Концентрация фибриногена у 71% пациентов, страдающих РТМ, была в пределах нормальных значений, используемых в клинической практике (2–4 г/л). Снижение уровня фибриногена менее порогового значения нормы (2 г/л) не отмечалось. У 29% пациентов наблюдалось его увеличение. В среднем уровень фибриногена у пациентов, страдающих РТМ, в 1,4 раза превышал значение этого показателя в группе контроля ($p < 0,01$).

Референсный диапазон концентрации ФВ, рекомендуемый производителем набора реагентов, составляет 50–160%. В этих пределах находилось 85% значений концентрации ФВ в группе контроля. Доверительный интервал в группе контроля составил 41–114%. В группе пациентов, страдающих РТМ, плазменный уровень ФВ был выше, чем в группе контроля, в 2 раза. Превышение верхней границы референсного интервала отмечалось в 28% случаев.

Уровень D-димеров также был статистически достоверно повышен у пациентов, страдающих РТМ, по сравнению с контрольной группой. У 28,1% пациентов с РТМ концентрация D-димеров превышала пороговую величину нормы, используемой в клинической практике, – 0,5 мг/л.

Были проанализированы результаты гемостазиограммы у пациентов, страдающих РТМ, по стадиям и по степени дифференцировки опухоли. Данные представлены в табл. 2.

Таблица 2**Концентрация компонентов гемостаза у пациентов, страдающих раком тела матки, с различной распространенностью и степенью дифференцировки опухоли**

Исследуемые группы	Фибриноген, г/л	Фактор Виллебранда, %	D-димеры, мг/л
Контроль	2,29 (1,95; 2,58)	65,5 (48,0; 97,0)	0,26 (0,15; 0,37)
I стадия РТМ	3,28* (2,92; 3,82)	129,0* (99,0; 187,0)	0,39* (0,26; 0,54)
II–III стадии РТМ	3,74* (3,22; 4,02)	149,0* (134,0; 162,0)	0,39 (0,18; 0,58)
G1 (грейд 1)	3,20* (2,89; 3,64)	108,0* (78,5; 153,5)	0,32 (0,26; 0,47)
G2 (грейд 2)	3,54* (3,02; 4,60)	154,5*^ (123,0; 228,0)	0,38 (0,23; 1,58)
G3 (грейд 3)	3,14* (2,86; 3,61)	161,0* (142,5; 163,0)	0,53*^ (0,43; 0,56)

Примечания:

* – различия достоверны по сравнению с контрольной группой;

^ – различия достоверны по сравнению с группой G1.

Как видно из табл. 2, наблюдалась тенденция к возрастанию концентрации фибриногена, ФВ в зависимости от стадии болезни. У пациентов с I стадией опухолевого процесса уровень фибриногена и ФВ превышал значения контрольной группы в 1,4 и 2 раза, а у пациентов со II–III стадиями – в 1,6 и 2,3 раза соответственно. Между группами пациентов, страдающих РТМ с различными стадиями заболевания, достоверных различий не было, что связано с большой вариабельностью полученных значений. Не различались между собой и группы пациентов, страдающих РТМ, с I и II–III стадиями по уровню D-димеров.

Анализ данных в зависимости от степени дифференцировки опухоли также выявил тенденцию к увеличению содержания D-димеров и ФВ в крови пациенток, страдающих РТМ. Увеличение уровня D-димеров у пациенток, страдающих РТМ, со степенью дифференцировки G1 по сравнению с контролем составило 23,1%, G2 – 46,2% и G3 – 103,8%. Для ФВ в этих же группах пациентов, страдающих РТМ, степень увеличения

по сравнению с контролем была соответственно 64,9% (G1), 135,9% (G2) и 145,8% (G3). Статистически достоверно различался уровень ФВ у пациентов группы G1 по сравнению с G2. При проведении корреляционного анализа выявлена прямая умеренная корреляционная связь между уровнем ФВ в крови пациентов, страдающих РТМ, и степенью дифференцировки опухоли ($r_{\text{спирмена}} = 0,31$; $p < 0,05$).

Уровень фибриногена был достоверно увеличен у всех групп пациентов, страдающих РТМ (G1, G2, G3), по сравнению с контрольной. Он не отличался существенным образом у пациентов, страдающих РТМ, с различной степенью дифференцировки опухоли (табл. 2).

Анализ результатов показал наличие прямой корреляционной зависимости между изучаемыми показателями гемостаза у пациентов, страдающих РТМ. Результаты анализа представлены в табл. 3.

Таблица 3

Коэффициенты корреляции уровня компонентов гемостаза у пациентов, страдающих раком тела матки

Показатели	Коэффициент корреляции Спирмена (r)	Уровень значимости, p
Фибриноген – D-димеры	0,49	0,002972
ФВ – D-димеры	0,48	0,003865
ФВ – фибриноген	0,55	0,000749

Наиболее сильной эта связь была между уровнем ФВ и фибриногена в крови пациентов, страдающих РТМ ($r_{\text{спирмена}} = 0,55$).

Таким образом, результаты исследования выявили значимое увеличение концентрации показателей гемостазиограммы в группе пациентов, страдающих РТМ.

О повышении ФВ у пациентов с онкологическими заболеваниями сообщалось ранее [10–11, 14]. Увеличение уровня ФВ в плазме крови пациентов, страдающих РТМ, по-видимому, является следствием дисфункции сосудистого эндотелия и повышенного выхода в плазму крови из секреторных гранул эндотелиальных клеток сосудов в результате их усиленной пролиферации, связанной с опухолезависимым ангиогенезом. У пациентов со II–III стадиями РТМ, а также с умеренной и низкой степенью дифференцировки опухоли (G2, G3) в большей степени проявлялась эндотелиальная дисфункция, о чем свидетельствует наиболее выраженное увеличение плазменного уровня ФВ и обнаруженная корреляция со степенью дифференцировки клеток опухоли. И это

неудивительно, поскольку ФВ играет важную роль в гематогенном метастазировании опухоли. Путем связывания с опухолевыми клетками через их поверхностные рецепторы GrIb и комплекс GrIb-IIIa (лиганды для ФВ), а затем с сосудистым эндотелием ФВ способствует формированию атипичных клеточных агрегатов, которые с трудом распознаются иммунной системой и имеют больше шансов прикрепиться к эндотелиальной поверхности, чем отдельные раковые клетки [14].

Уровень фибриногена в плазме крови повышается с ростом опухоли, ее прогрессированием и метастазированием [7, 10–11, 14, 16]. Результаты проведенного нами исследования показали, что значения этого показателя у пациентов, страдающих РТМ, повышены. Однако у пациенток со II–III стадиями патологического процесса по сравнению с I стадией обнаружена лишь тенденция к увеличению уровня фибриногена. Наблюдаемая фибриногемия может быть вызвана прямой активацией свертывания крови, связанной с индукцией тромбина опухолевыми прокоагулянтами, или через опухолеассоциированные цитокины, которые инициируют продукцию тканевого тромбопластина макрофагами или эпителиальными клетками. Увеличение уровня фибриногена у больных злокачественными новообразованиями может возникать также вследствие развития воспалительной реакции на рост опухоли [17]. Считают, что опухолевые клетки сами могут являться источниками фибриногена [18]. Посредством взаимодействия с фактором роста фибробластов-2 (FGF-2) и сосудисто-эндотелиальным фактором роста (VEGF) фибриноген участвует в процессах ангиогенеза и опухолевого роста [18–19]. Совместно с тромбоцитами фибриноген способствует образованию опухолевых микротромбов, реализуя эффект физического барьера, препятствуя привлечению моноцитов, лейкоцитов и натуральных киллеров к опухолевым клеткам. Защищая опухолевые клетки от механического и иммунного повреждения, фибриноген усиливает их метастатический потенциал [6].

Обнаруженная корреляция уровня ФВ и фибриногена у пациентов, страдающих РТМ, закономерна и объясняется участием ФВ в коагуляционном гемостазе. Как известно, ФВ способствует стабилизации молекулы фактора VIII и транспортировке ее к месту образования тромба. Фактор VIII, в свою очередь, необходим для активации фактора X при участии фактора IXa.

Рядом авторов описано увеличение уровня D-димеров при различных видах рака [12, 13, 20]. Их высокое содержание свидетельствует об активации фибринолиза в ответ на повышение свертываемости крови, а также об усиленном образовании фибрина из фибриногена. Продемонстрированное в данной работе увеличение концентрации D-димеров у пациентов, страдающих РТМ, согласуется с этим утверждением. На это, в

частности, указывает обнаруженная корреляция плазменного уровня D-димеров с содержанием фибриногена при РТМ.

Таким образом, выявленные изменения в системе свертывания крови пациентов, страдающих РТМ, сопутствуют прогрессированию болезни. Результаты исследования позволяют выделить изучаемые показатели крови (фибриноген, ФВ, D-димеры) в качестве кандидатов для дальнейшего исследования и последующего включения в многофакторный анализ для оценки степени распространенности и дифференцировки опухоли у пациентов, страдающих РТМ, на дооперационном этапе.

ВЫВОДЫ

1. В крови пациенток, страдающих раком тела матки, увеличена концентрация фибриногена, фактора Виллебранда и D-димеров. Отмечена тенденция к возрастанию уровня фибриногена и ФВ по мере распространения опухолевого процесса.

2. Между уровнем содержания фактора Виллебранда и степенью дифференцировки опухоли при раке тела матки имеется умеренная прямая корреляционная связь.

3. При раке тела матки имеют место сильная прямая корреляционная связь между уровнем фибриногена в крови и концентрацией фактора Виллебранда, средняя – между концентрацией фибриногена и D-димеров, а также положительная корреляционная зависимость между уровнями D-димеров и фактора Виллебранда.

Summary

Prinkova T.Y.¹, Prokhorova V.I.², Tsirus T.P.², Kolyadko N.N.², Tahanovich A.D.¹

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² N.N. Alexandrov Republican Research Centre of Oncology and Medical Radiology, Minsk, Belarus

The value of research indicators to assess hemostatic potential of blood (fibrinogen, von Willebrand factor and D-dimer) as a potential laboratory criteria and prevalence of tumor differentiation in endometrial cancer patients

In the blood of 57 patients with endometrial cancer and 16 healthy individuals were determined hemocoagulation factors. The concentration of fibrinogen, von Willebrand factor (vWF) and D-dimer increased in the blood of patients with endometrial cancer, compared with similar values in clinically healthy individuals. The tendency to increased levels of fibrinogen and VWF, as the spread of cancer. Between the concentration of EF and the degree of

malignancy of the tumor revealed a moderate positive correlation. The established changes in laboratory test parameters investigated can be used to diagnose the stage of carcinogenesis and tumor grade at endometrial cancer.

Key words: endometrial cancer, haemostasis, fibrinogen, von Willebrand factor, D-dimer.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cancer Statistics / A. Jemal [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2009. – Vol. 59. – № 4. – P. 225–249.
2. Serum biomarkers for early detection of gynecologic cancers / Y. Ueda [et al.] // *Cancers.* – 2010. – Vol. 2. – P. 1312–1327.
3. 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.
4. Нарушения системы гемостаза у онкологических больных: современное состояние проблемы (обзор литературы) / О.В. Соимова // *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.* – 2006. – Т.17. – № 2. – С. 39–43.
5. Kakkar, A.K. Thrombosis and cancer: implications beyond Trousseau / A.K. Kakkar, M.N. Levine // *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* – 2004. – Vol. 2. – Issue 8. – P. 1261–1262.
6. Данилов, И.П. Роль гемостаза в метастазировании опухолевых клеток / И.П. Данилов // *Здравоохранение.* – 2005. – № 8. – С. 21–22.
7. Fibrinogen is an important determinant of the metastatic potential of circulating tumor cells / J.S. Palumbo [et al.] // *Blood.* – 2000. – Vol. 96. – P. 3302–3309.
8. Measurement of von Willebrand factor as the marker of endothelial dysfunction in vascular diseases / B. Horvath [et al.] // *Exp. Clin. Cardiol.* – 2004. – Vol. 9. – № 1. – P. 31–34.
9. Association between blood rheology, thrombosis and cancer survival in patients with gynecologic malignancy / G.F. Von Tempelhoff [et al.] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2000. – Vol. 22. – P. 107–130.
10. Preoperative plasma fibrinogen levels in gastric cancer patients correlate with extent of tumour / J.H. Lee [et al.] // *Hepatogastroenterology.* – 2004. – Vol. 51. – P. 1860–1863.
11. Plasma fibrinogen and serum C-reactive protein are associated with non-small cell lung cancer / J.M. Jones [et al.] // *Lung Cancer.* – 2006. – Vol. 53. – P. 97–101.
12. Plasma fibrin D-dimer levels correlate with tumour volume, progression rate and survival in patients with metastatic breast cancer / L.Y. Dirix [et al.] // *British Journal of Cancer.* – 2002. – Vol. 86. – P. 389–395.

13. Pretreatment plasma levels of fibrinopeptide-A (FPA), D-dimer (DD), and von Willebrand factor (vWF) in patients with ovarian carcinoma / A. Gaducci [et al.] // *Gynecol Oncol.* – 1994. – Vol. 53. – № 3. – P. 352–356.
14. The prognostic value of plasma fibrinogen levels in patients with endometrial cancer: a multi-centre trial / V. Seebacher [et al.] // *British Journal of Cancer.* – 2010. – Vol. 102. – P. 952–956.
15. Prognostic significance of preoperative plasma fibrinogen in endometrial cancer // L.M. Ghezzi [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2010. – Vol. 119. – № 2. – P. 309–313.
16. Pretreatment plasma fibrinogen level correlates with tumor progression and metastasis in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus / H. Takeuchi [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – Vol. 22. – P. 2222–2227.
17. Coussens, L.M. Inflammation and cancer / L.M. Coussens, Z. Werb // *Nature.* – 2002. – Vol. 420. – P. 860–867.
18. Fibrinogen synthesized by cancer cells augments the proliferative effect of fibroblast growth factor-2 (FGF-2) / A. Sahni [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol. 6. – P. 176–183.
19. FGF-2 binding to fibrin(ogen) is required for augmented angiogenesis / A. Sahni [et al.] // *Blood.* – 2006. – Vol. 107. – P. 126–131.
20. Pretreatment plasma fibrinogen level correlates with tumor progression and metastasis in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus / H. Takeuchi [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – Vol. 22. – P. 2222–2227.
21. Фаттахова, Д.У. Исследование D-димера у онкологических больных / Д.У. Фаттахова, Ф.М. Усманова, А.Ж. Гильманов // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2007. – № 9. – С. 68 – 68а.