

УДК 616.24-006.6+615.849:576.385.5

ВІРА ВАСИЛІВНА КАРВАСАРСЬКА, ЛІДІЯ ВОЛОДИМИРІВНА ГРЕБІНИК
НАТАЛІЯ ВОЛОДИМИРІВНА БІЛОЗОР, СТАНІСЛАВ ЮРІЙОВИЧ БАСИЛАЙШВІЛІ
ТЕТЯНА СТАНІСЛАВІВНА БАКАЙ, НАТАЛІЯ АНДРІЇВНА МІТРЯЄВА
ВІКТОР ПЕТРОВИЧ СТАРЕНЬКИЙ, ВОЛОДИМИР ІВАНОВИЧ СТАРІКОВ

ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України», Харків

СИРОВАТКОВИЙ РІВЕНЬ VEGF ЯК МАРКЕР АНГІОГЕНЕЗУ У ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ

Мета роботи. З'ясувати можливий зв'язок між вмістом маркера ангіогенезу VEGF у сироватці крові хворих на недрібноклітинний рак легені (НДРЛ) і головними клініко-морфологічними характеристиками захворювання.

Матеріали і методи. Обстежено 37 хворих на НДРЛ віком 40–72 роки, що перебували на лікуванні в ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» і Харківському обласному клінічному онкоцентрі. У групу контролю ввійшли 14 практично здорових людей. Проведено загальне клінічне, морфологічне і рентгенологічне обстеження всіх пацієнтів. Вміст сироваткового VEGF у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу з використанням стандартних наборів «Вектор-Бест» (Росія) до і після лікування.

Результати. Рівень вмісту сироваткового VEGF був підвищеним у 75,6 % хворих на НДРЛ до лікування. Встановлено зв'язок між експресією сироваткового VEGF і такими клініко-морфологічними характеристиками, як стадія захворювання, ступінь злоякісності процесу і ураженням лімфовузлів. Не виявлено вірогідної різниці між вмістом VEGF та гістологічним варіантом раку легені, локалізацією пухлини, віком та статтю пацієнтів з НДРЛ.

Висновки. Отримані дані демонструють певну залежність між підвищеним сироватковим VEGF та ступенем злоякісності пухлини, а також розповсюдженістю процесу.

Ключові слова: радіотерапія, фактор росту ендотелію судин, ангіогенез, недрібноклітинний рак легені.

Рак легені (РЛ) є найбільш поширеною пухлиною, яка тривалий час залишається основною причиною смерті від онкологічних захворювань [1, 2]. У зв'язку з цим проблема удосконалення протипухлинного лікування РЛ є актуальною і соціально значимою. На сьогодні ще недостатньо прогностичних факторів для контролю за ефективністю хіміопроменевого лікування РЛ. Існує необхідність запровадження у практику нових предикторів хіміопроменевої терапії злоякісних новоутворень, які дозволять оптимізувати стратегію лікування і, таким чином, покращити його результати. Одним з найбільш перспективних підходів до індивідуалізації та підвищення ефективності лікування онкологічних хворих нині є визначення молекулярних маркерів пухлин, які характеризують їх функціональні властивості та особливості біологічної поведінки. У зв'язку з цим актуальність пошуку нових маркерів

для моніторингу ефективності хіміопроменевого лікування недрібноклітинного раку легені (НДРЛ) на підставі сучасних поглядів на молекулярно-біологічні аспекти канцерогенезу і досягнень радіаційної онкології є очевидною.

Основними проявами злоякісного зростання пухлин вважають необмежений інвазивний ріст і метастазування. Неоангіогенез, тобто формування нових судин, є важливою патологічною ланкою, що підтримує зазначені вище властивості пухлини [3]. Особливості ангіогенезу, важливого механізму пухлинного процесу, нині активно вивчаються [4, 5]. Донедавна основною характеристикою активності неоангіогенезу в пухлині була оцінка мікроскопічної щільності судин у тканинах. Однак у результаті інтенсивного вивчення механізмів ангіогенезу за останні 5–10 років було виявлено певні регуляторні про- і антиангіогенні фактори, динамічний баланс яких визначає ефективність процесів утворення нових судин. Провідна роль серед таких регуляторів належить фактору росту

ендотелію судин (vascular endothelial growth factor — VEGF). Рівень експресії VEGF — потужного стимулятора ангиогенезу має суттєве значення для прогнозування виникнення певних злоякісних новоутворень, він також впливає на чутливість пухлин до лікувальних заходів.

Таким чином, експресія білкових продуктів, які контролюють процеси ангиогенезу, може відтворювати індивідуальні особливості пухлини і виступати як маркер прогнозу злоякісного процесу, що можливо використовувати для моніторингу ефективності протипухлинного лікування. Вивчення регуляторів ангиогенезу відкриває можливості їх використання для оцінки ефективності хіміопроменевої терапії РЛ, що може сприяти індивідуалізації терапевтичного підходу. Однак ще недостатньо досліджена експресія регуляторних факторів ангиогенезу, зокрема VEGF, за умов дії хіміопроменевої терапії на НДРЛ. Для вирішення цього питання необхідні дослідження рівня ангиогенного фактора у хворих на РЛ.

Мета дослідження — визначити можливий зв'язок вмісту маркера ангиогенезу VEGF у сироватці крові хворих на НДРЛ з основними клініко-морфологічними характеристиками захворювання.

МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 37 хворих на НДРЛ віком від 40 до 72 років, які лікувались у Державній установі «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» і Харківському обласному клінічному онкологічному центрі в період січня–червня 2014 р. Групу контролю склали 14 практично здорових людей, порівнянних за віком і статтю.

За стадією захворювання пацієнти розподілялися так: IA стадія (T1N0M0) — 1 хворий, IB стадія (T2N0M0) — 6; IIA — (T1N1M0) — 4; IIB — (T2N1M0) — 9; IIIA — (T2N2M0) — 10, IIIB — (T3N3M0) — 5, IV — (T3–4N1–2M1) — 2 хворих.

Усіх пацієнтів піддавали загальному клінічному обстеженню. Отримано морфологічне та цитологічне підтвердження діагнозу при проведенні фібробронхоскопії з біопсією. Проведено також рентгенологічне дослідження органів грудної, черевної порожнини, малого таза та головного мозку на комп'ютерному томографі Toshiba Aquilon 64 з метою виявлення поширеності процесу, ураження регіонарних лімфовузлів та віддаленого метастатичного процесу. Загальний соматичний статус хворих оцінювався за шкалою Карновського і складав не менше 70 балів.

Рівень VEGF визначали у сироватці крові методом твердофазового імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням стандартних наборів реактивів ЗАО «Вектор-Бест», Росія, до початку специфічного лікування. Хворі були розподілені на групи залежно від стадії процесу, гістологічного типу та локалізації пухлини, ступеня злоякісності, ураження лімфовузлів.

Проведені дослідження схвалені комітетом з біомедичної етики ДУ «Інститут медичної радіології

ім. С. П. Григор'єва НАМН України», пацієнти були проінформовані про дослідження і дали згоду на його проведення.

Статистичну обробку даних проводили на персональному комп'ютері за допомогою програмного пакета Statistica 6.0 при використанні непараметричних методів для малих вибірок та критерію Вілкоксона–Манна–Уїтні. В усіх випадках відмінність вважали статистично вірогідною при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вміст VEGF у сироватці крові 75,6 % хворих (у 28 із 37 пацієнтів) до специфічного лікування був достовірно вищим, ніж у контрольній групі ($P < 0,05$), і складав від 282 до 1853 пг/мл (медіана — 416 пг/мл), у 24,4 % хворих рівень VEGF був у межах норми. В контрольній групі рівень показників VEGF становив 34,3–276,7 пг/мл (медіана — 182 пг/мл).

Значимих взаємозв'язків вмісту VEGF у сироватці крові хворих на РЛ з віком (від 40 до 79 років) та статтю не знайдено.

Отримані результати дослідження рівня VEGF до початку специфічного лікування залежно від основних клініко-морфологічних характеристик РЛ представлені в таблиці.

Таблиця

Вміст VEGF у сироватці крові хворих на НДРЛ залежно від клініко-морфологічних характеристик захворювання, пг/мл

VEGF, пг/мл				
Група	n	Медіана	Min	Max
Контроль	14	182	34,3	276,7
Стадія				
I–II	14	319*	250	701
III–IV	14	674*.*	409	1853
Локалізація				
Периферична	17	326*	250	1853
Центральна	11	552*	284	1312
Гістологічний тип пухлини				
Плоскоклітинна	23	551*	317	1605
Неплоскоклітинна	5	348*	284	1853
Ступінь диференціювання				
G ₂	9	348*	284	1204
G ₃ , G ₄	5	1197*.*	635	1853
Ураження лімфовузлів (критерій N)				
N-	8	313*	210	900
N+	20	581*.*	317	1853
Розмір пухлини (критерій T)				
T ₁	6	429*	305	900
T ₂	20	441*	210	1853
T ₃	2	1302*.*	1195	1410

Примітка. Вірогідність різниці: * — відносно контрольної групи; # — у групах відносно розподілу за клініко-морфологічними показниками; $P < 0,05$.

Пацієнти були розподілені на 2 групи: у хворих I і II стадії діагностована операбельна форма, у хворих III–IV стадії — неоперабельна. Отримані результати свідчать про залежність між підвищенням сироваткового рівня VEGF і стадією захворювання.

Медіанні значення показника були вище у хворих з операбельною формою раку (III–IV стадії) у порівнянні з операбельною (I–II стадії). Не визначено залежності вмісту ангіогенного фактора від гістологічного типу та локалізації пухлини.

На наступному етапі дослідження оцінювали клініко-морфологічні фактори прогнозу НДРЛ: розмір пухлини, ступінь гістопатологічного диференціювання, ураження лімфовузлів та рівень VEGF. Аналіз вмісту VEGF у сироватці крові хворих на рак легень залежно від ступеня гістопатологічного диференціювання за критерієм G продемонстрував достовірність відмінностей між G2 і G3–G4. Так, концентрація VEGF була меншою у разі низького ступеня злоякісності (G2) і рівень її зростав при вищому ступені (G3–G4) більш ніж у 3 рази.

Аналіз взаємозв'язків між експресією VEGF та ураженням лімфовузлів (критерій N) показав, що рівень ангіогенного фактора VEGF у сироватці крові у хворих на НДРЛ з ураженням лімфовузлів вищий, ніж у пацієнтів без такого ураження.

Не визначено вірогідних відмінностей вмісту VEGF залежно від розміру пухлини (критерій T) за системою TNM. Ці дослідження потребують продовження, оскільки набір матеріалу для визначення VEGF проводили головним чином при критерії T2.

Отримані дані демонструють конкретну залежність між підвищенням сироватково-го рівня VEGF та стадією захворювання, ступенем

гістопатологічного диференціювання і ураженням лімфовузлів. Аналіз середніх концентрацій VEGF як у групі контролю, так і у групах хворих на рак легень цілком відповідає результатам останніх досліджень, опублікованих у літературі [6, 7]. А результати свідчать, що активація VEGF як одного з ключових факторів ангіогенезу, ймовірно, багато в чому визначає агресивність перебігу хвороби у випадку даної патології. Можливо, пухлина продукує VEGF, який потрапляє в систему циркуляції, внаслідок чого рівень фактора корелює з клінічними симптомами поширеності процесу і може використовуватись як додатковий критерій моніторингу хіміопроменевого лікування НДРЛ, як маркер ангіогенезу. Ці дані потребують додаткових досліджень зі значно більшою кількістю хворих та визначення експресії ангіогенного фактора в динаміці лікування.

ВИСНОВКИ

1. Вміст VEGF у сироватці крові хворих на НДРЛ в 75,6 % випадків вірогідно вищий, ніж у контрольній групі.

2. У хворих на НДРЛ встановлено взаємозв'язок між експресією VEGF і стадією захворювання, ступенем гістопатологічного диференціювання та ураженням лімфовузлів.

3. Не виявлено вірогідної різниці між вмістом VEGF та гістологічним варіантом раку легень, локалізацією пухлини, віком та статтю хворих на НДРЛ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Рак легкого* / под ред. П. Лоригана. — М.: Рид Элсивер, 2009. — 195 с.
2. *Рак в Україні, 2011–2012*. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби // Бюл. Нац. канцер-реєстру України. — Київ, 2013. — № 14. — 120 с.
3. *Биотерапия* опухолей / С. И. Ялут, Г. П. Потебня. — К.: Книга плюс, 2010. — 125 с.
4. *Cytokines in bronchoalveolar lavage fluid and serum of lung cancer patients during radiotherapy — Association of interleukin-8 and VEGF with survival* / M. Crohns, S. Saarelainen, S. Laine et al. // *Cytokine*. — 2010. — Vol. 50, N 1. — P. 30–36.
5. *Jackson A. L. HIF, hypoxia and the role of angiogenesis in non-small cell lung cancer* / A. L. Jackson, B. Zhou, W. Y. Kim // *Expert. Opin. Ther. Targets*. — 2010. — Vol. 14, N 1. — P. 1047–1057.
6. *Prognostic impact of VEGF and VEGF receptor 1 (FLT1) expression in patients irradiated for stage II/III non-small cell lung cancer (NSCLC)* / D. Rades, C. Setter, J. Dunst et al. // *Strahlenther. Onkol.* — 2010. — Vol. 186, N 6. — P. 307–314.
7. *Angiogenin and vascular endothelial growth factor expression in lungs of lung cancer patients* / Rozman A., Silar M., Kosnik M. // *Radiol. Oncol.* — 2012. — Vol. 46 (4). — P. 354–359.

Стаття надійшла до редакції 18.12.2014.

В. В. КАРВАСАРСКАЯ, Л. В. ГРЕБЕНИК, Н. В. БЕЛОЗОР, С. Ю. БАСИЛАЙШВИЛИ,
Т. С. БАКАЙ, Н. А. МИТРЕВА, В. П. СТАРЕНЬКИЙ, В. И. СТАРИКОВ

ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины», Харьков

СЫВОРОТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ VEGF КАК МАРКЕР АНГИОГЕНЕЗА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

Цель работы. Выявить возможную связь между содержанием маркера ангиогенеза VEGF в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком легкого и основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания.

Материалы и методы. Обследованы 37 больных НМРЛ в возрасте 40–72 лет, находящихся на лечении в ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины» и Харьковском областном клиническом онкоцентре. Группу контроля представляли 14 практически здоровых человек. Проведено общее клиническое, морфологическое и рентгенологическое обследование всех пациентов. Содержание VEGF в сыворотке крови определялось методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов «Вектор-Бест» (Россия) до и после лечения.

Результаты. Содержание сывороточного VEGF было повышенным у 75,6 % больных НМРЛ до лечения. Обнаружена связь между экспрессией VEGF и такими клинико-морфологическими признаками, как стадия заболевания, степень злокачественности процесса и поражения лимфоузлов. Не найдено достоверное отличие между содержанием VEGF и гистологическим вариантом рака легкого, локализацией опухоли, возрастом и полом пациентов с НМРЛ.

Выводы. Полученные данные демонстрируют определенную зависимость между повышенным сывороточным уровнем VEGF и степенью злокачественности опухоли, а также распространенностью процесса.

Ключевые слова: радиотерапия, фактор роста эндотелия сосудов, ангиогенез, немелкоклеточный рак легкого.

V. CARVARSARSKAYA, L. GREBINIK, N. BELOZOR, S. BASILAYSHVILI,
T. BAKAI, N. MITRYAEVA, V. STARENKIY, V. STARIKOV

SI «Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Science of Ukraine», Kharkiv

BLOOD SERUM VEGF CONTENT AS THE MARKER OF ANGIOGENESIS IN PATIENTS WITH LUNG CANCER

Objective. To reveal possible connection between blood serum VEGF content and clinicomorphological characteristics of the disease.

Material and methods. The study involved 37 patients with non-small-cell lung cancer aged from 40 to 72 who were undergoing treatment at SI Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Sciences Kharkiv Regional Cancer Center and control group of 14 healthy patients. Common clinical, morphological and radiological examination of all patients was carried out. Blood serum VEGF content was determined by means of enzyme multiplied immunoassay with the use of standard sets «Вектор-Бест» (Russia) before and after treatment.

Results. Blood serum VEGF content was elevated in 75.6 % patients with NSCLC before treatment. The connection between VEGF expression and such clinicomorphological characteristics as stage of disease, degree of malignancy and involvement of lymph nodes was revealed.

Conclusion. The analysis of expression level of serum VEGF in patients with non-small-cell lung cancer showed the possibility of use of this marker for monitoring of chemoradiation therapy.

Keywords: radiotherapy, vascular endothelial growth factor (VEGF), angiogenesis, non-small-cell lung cancer.

Контактна інформація:

Карвасарська Віра Василівна
променевий терапевт
відділення дистанційної, поєднаної променевої
та комплексної терапії ДУ ІМР НАМН України
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна
тел.: +38 (096) 292-30-71
e-mail: kverav-78@bk.ru