

УДК 616.24-006.6+615.849:576.385.5

ОЛЕКСАНДР МИКОЛАЙОВИЧ БІЛИЙ^{1,2}, МИКОЛА ВІЛЛЕНОВИЧ КРАСНОСЕЛЬСЬКИЙ¹,
НАТАЛІЯ АНДРІЙВНА МІТРЯЄВА¹, ЛІДІЯ ВОЛОДИМИРІВНА ГРЕБІНИК¹,
ОЛЕКСАНДР АНАТОЛІЙОВИЧ РАДЧЕНКО¹

¹ ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України», Харків

² Харківський національний медичний університет

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ VEGF У СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА ВТОРИННО-НАБРЯКОВИЙ РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

Мета роботи. З'ясувати можливий зв'язок між вмістом маркера ангіогенезу сироваткового VEGF у сироватці крові хворих на вторинно-набряковий рак грудної залози (ВНРГЗ) і головними клініко-морфологічними характеристиками захворювання.

Матеріали і методи. Обстежено 20 жінок, хворих на ВНРГЗ, віком 38–75 років, які лікувалися у ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України» з січня 2015 по липень 2016 року. Групу контролю склали 10 практично здорових жінок, порівнянних за віком. Вміст сироваткового VEGF у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу з використанням стандартних наборів «Вектор-Бест» (Росія) до і після лікування.

Результати. Вміст VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ до початку специфічного лікування був вищим у 3,4 рази, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). Експресія VEGF у хворих на ВНРГЗ асоціювалася з факторами несприятливого прогнозу (злоякісністю пухлини, проліферативною активністю пухлини (Ki-67), гормонорезистентністю (відсутність рецепторів стероїдних гормонів) та гіперекспресією Her-2/neu).

Висновки. Доведено, що біологічна активність пухлини прямо залежить від підвищеного вмісту VEGF у сироватці крові хворих. Даний маркер можна використовувати як можливий фактор несприятливого прогнозу перебігу захворювання.

Ключові слова: неоад'ювантна поліхіміотерапія, фактор росту ендотелію судин, ангіогенез, вторинно-набряковий рак грудної залози.

Рак грудної залози (РГЗ) залишається актуальною проблемою онкології та однією з причин смерті жінок в усьому світі. Особливою злоякісністю, раннім та швидким лімфогенним та гематогенним метастазуванням, незадовільними віддаленими результатами відрізняється вторинно-набряковий рак грудної залози (ВНРГЗ). Виділяють два види набряково-інфільтративних форм: первинну (істинну) та вторинну. Первинна форма характеризується дифузною інфільтрацією тканини грудної залози, набряком шкіри, іноді гіперемією, а також відсутністю пухлинного вузла. Вторинна форма зустрічається частіше і становить до 25 % усіх випадків РГЗ. Для неї характерні більша тривалість анамнезу захворювання та наявність пухлинного вузла. У зв'язку з цим проблема удосконалення протипухлинного лікування ВНРГЗ залишається актуальною і соціально значимою. На сьогодні ще недостатньо прогностичних факторів для індивідуального вибору протипухлинного лікування дано захворювання та контролю за його ефективністю.

Патологічний ангіогенез є невід'ємною частиною пухлинного процесу, оскільки забезпечує пухлину,

що зростає, киснем та поживними речовинами [1, 2]. Основним регулятором ангіогенезу є фактор росту ендотелію судин (VEGF), який має специфічну мітогенну дію відносно ендотелію судин [3, 4]. У більшості наукових публікацій, які присвячено неоангіогенезу при РГЗ, визначено негативне прогностичне значення гіперекспресії VEGF у пухлині [5, 6], який також вважають фактором, що прогнозує ймовірну резистентність до традиційних видів лікарського та променевого лікування [7, 8].

За даними літератури, досліджень, присвячених оцінці клінічного значення VEGF у хворих на ВНРГЗ небагато, і результати співвідношення рівня VEGF у сироватці крові з клініко-морфологічними особливостями РГЗ практично не представлено. Однак перспективність цього напрямку безперечна.

Метою роботи є визначення можливого взаємозв'язку вмісту VEGF в сироватці крові хворих на ВНРГЗ з основними клініко-морфологічними критеріями захворювання.

МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 20 жінок, хворих на ВНРГЗ, віком 38–75 років, які лікувалися у ДУ «Інститут медичної

© О. М. Білий, М. В. Красносельський, Н. А. Мітряєва,
Л. В. Гребіник, О. А. Радченко, 2016

радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України» в період від січня 2015 до липня 2016 року. Групу контролю склали 10 практично здорових жінок, порівнянних за віком.

Усі пацієнтки пройшли загальне клінічне обстеження. Отримано морфологічне та цитологічне підтвердження діагнозу. Проведено також рентгенологічне дослідження органів грудної, черевної порожнини, малого таза із внутрішньовенним контрастуванням на комп'ютерному томографі Toshiba Aquilon 64 з метою виявлення поширеності процесу, ураження регіонарних лімфовузлів та віддаленого метастазування.

В усіх пацієнток була ІІВ стадія захворювання. Локальний набряк шкіри розповсюджувався до 3 см від первинної пухлини у 5 хворих, до 7 см — у 10, понад 7 см — у 5 хворих. Площа набряку не корелювала з розміром первинної пухлини. Розміри пухлини варіювали від 3 до 8 см, причому до 5 см пухлина становила у 8 (40 %) хворих, понад 5 — у 12 (60 %) хворих.

В усіх досліджуваних до початку лікування визначали у сироватці крові рівень експресії маркера VEGF методом твердофазового імуоферментного аналізу зі стандартними наборами реактивів ЗАТ «Вектор-Бест», Росія. А у зразку тканини пухлини визначали рівні експресії маркерів Ki-67, Her-2/neu, рецептори естрогену (ER) і рецептори прогестерону (PR) імуногістохімічним методом за загальноприйнятою методикою [8–10]. Для дослідження використовували антитіла фірми «Novocastra» (Велика Британія) та фірми «ДАКО» (Данія), ABC-Kit (universal) фірми «Novocastra», DAB фірми «Pharmingen».

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.

Статистичний аналіз даних здійснювали за допомогою пакета статистичних програм «Statistica 6.0» при використанні параметричних (Стьюдента–Фішера) та непараметричних методів для малих вибірок. Дані подавали як медіану, мінімальне і максимальне значення і порівнювали їх між групами за критеріями Манна–Уїтні. Розбіжності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вміст VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ до початку специфічного лікування був вищим у 3,4 разу, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$), і складала від 280 до 510 пг/мл (медіана 424 пг/мл). У контрольній групі рівень показників VEGF становив від 80,4 до 178,6 пг/мл (медіана 126,9 пг/мл). Аналіз отриманих даних до початку спеціального лікування залежно від основних клініко-морфологічних характеристик ВНРГЗ представлено у таблиці.

На статистично значимому рівні взаємозв'язків між вмістом VEGF у сироватці крові хворих

на ВНРГЗ та віком (38–75 років), станом менопаузного статусу, локалізацією, розміром пухлини не виявлено. За даними аналізу гістотипу пухлини виявлено, що інвазивний протоковий рак зустрічався у $20 \pm 8,9$ % хворих (медіана рівня VEGF складала 396 пг/мл), інвазивний часточковий рак зареєстрований у $80 \pm 8,9$ % хворих (медіана вмісту VEGF — 428 пг/мл). Таким чином, не визначено статистично значущої різниці між експресією VEGF та гістотипом пухлини.

Таблиця

Вміст VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ ІІВ стадії залежно від клініко-морфологічних характеристик захворювання

Група	VEGF, пг/мл			
	n	Медіана	Min	Max
Контроль	10	126,9	80,4	178,6
Хворі на ВНРГЗ	20	424 *	280	510
Менопаузний статус				
збереж. менст. функції	4	375 *	280	410
перименопауза	2	395 *	359	432
постменопауза	14	425 *	295	510
Гістотип				
інвазив. часточковий	16	428	280	510
інвазив. протоковий	4	396	369	448
Локалізація				
лівобічна	11	425 *	280	510
правобічна	9	393 *	360	448
Розмір пухлини				
< 5 см	8	398 *	295	468
> 5 см	12	432 *	280	510
Ураження лімфовузлів (критерій N)				
N-	9	332 *	280	386
N+	11	479 *	359	510
Ступінь злякисності				
G ₂	4	325 *	280	359
G ₃	11	498 *#	390	510
Ki 67				
< 25 %	4	325 *	280	359
> 25 %	7	499 *#	396	510
Статус RE				
рецептор позитивний	8	331 *	280	386
рецептор негативний	6	495 *#	390	510
Статус RP				
рецептор позитивний	9	336 *	280	390
рецептор негативний	7	496 *#	396	510
Статус Her-2/neu				
0-2+	11	330 *	280	386
2/3P3+	7	484 *#	385	510

Примітки: * — вірогідність різниці відносно контрольної групи, $p < 0,05$; # — вірогідність різниці у групах відносно розподілу за клініко-морфологічними показниками, $p < 0,05$.

Аналіз взаємозв'язків між експресією VEGF та ураженням лімфовузлів (критерій N) показав, що рівень ангіогенного фактора VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ з ураженням лімфовузлів вищий, ніж у пацієнтів без такого ураження, у 1,44 разу

(див. табл.). Визначено зв'язок між підвищенням рівня VEGF та ступенем злоякісності пухлини. При високому ступені злоякісності (G_3), який відмічено у $75 \pm 9,7\%$ пацієнтів, VEGF був вищий в 1,53 разу порівняно з низьким ступенем (G_2), що виявився у $25 \pm 9,7\%$ хворих.

Як видно з таблиці, рівень VEGF корелював з показниками експресії маркера Ki-67, який характеризує проліферативну активність пухлини. Так, у $65 \pm 10,7\%$ хворих цей показник був $> 25\%$, у $35 \pm 10,7\%$ пацієнтів спостерігали його експресію $< 25\%$. У хворих з рівнем експресії Ki-67 $> 25\%$ у пухлині вміст VEGF у сироватці крові був вищим у 1,53 разу, ніж у групі з показниками $< 25\%$. Загальновідомо, що при вмісті Ki-67 $< 25\%$ пухлина вважається менш агресивною [11]. Відомо також, що при високому рівні тканинного ядерного антигену проліферуючих клітин Ki-67 пухлина з більш високою імовірністю відповість на хіміотерапію, а при низькому рівні даного показника вона більшою мірою відреагує (при наявності позитивних РП та РЕ) на гормонотерапію. Таким чином, аналіз взаємозв'язку рівнів VEGF та Ki-67 виявив підвищений вміст VEGF у групі з гіперекспресією Ki-67, що може свідчити про агресивність перебігу хвороби.

Аналіз експресії рецепторів стероїдних гормонів у пухлині показав, що у $75 \pm 9,7\%$ хворих на ВНРГЗ спостерігається позитивний статус РЕ (60–85%), а у $25 \pm 9,7\%$ пацієнтів — негативний статус РЕ ($< 10\%$). У $55 \pm 11,1\%$ пацієнтів також визначали позитивний статус РП (67–90%), у $45 \pm 11,1\%$ — негативний статус РП ($< 10\%$). Дослідження співвідношення рівня VEGF з показниками гормонозалежності пухлини, а саме зі вмістом рецепторів стероїдних гормонів, показало підвищення вмісту VEGF у групі з РЕ-негативними пухлинами порівняно з РЕ-позитивними зразками в 1,49 разу. Виявлено збільшення вмісту VEGF у РП-негативних пухлинах порівняно з РП-позитивними зразками в 1,47 разу. Отже, можливо припустити, що підвищений рівень VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ на фоні гормонорезистентності (відсутність рецепторів стероїдних гормонів) характеризує агресивність пухлини та слугує ознакою несприятливого перебігу захворювання.

За результатами імуногістохімічного визначення експресії Her-2/neu пухлини розподіляли на Her-2/neu негативні (0-2+) — $65 \pm 10,7\%$ і Her-2/neu позитивні (2/3Р3+) — $35 \pm 10,7\%$. Her-2/neu — представник родини рецепторів епідермального фактора росту пухлини. Відомо, що гіперекспресія Her-2/neu при деяких підтипах РГЗ веде до посилення проліферації і ангиогенезу, порушення регуляції апоптозу [12]. Показано, що при РГЗ гіперекспресія цього рецептора у тканині пухлини асоційована з більш агресивним

перебігом хвороби, підвищеним метастатичним потенціалом пухлини та несприятливим її прогнозом. Дослідження співвідношення рівня VEGF з показниками експресії Her-2/neu пухлини у хворих на ВНРГЗ показало підвищення вмісту VEGF у групі з Her-2/neu (+) статусом пухлини у 1,46 разу порівняно з групою з Her-2/neu (–) статусом пухлини ($p < 0,05$). Це свідчить про можливість визначення факторів несприятливого перебігу пухлинного процесу у хворих на ВНРГЗ.

Отже, експресія VEGF у хворих на ВНРГЗ асоціювалася з факторами несприятливого прогнозу (злоякісністю пухлини, проліферативною активністю пухлини (Ki-67), гормонорезистентністю (відсутність рецепторів стероїдних гормонів) та гіперекспресією Her-2/neu).

Грунтуючись на положеннях, підтверджених даними літератури про зв'язок факторів ангиогенезу та агресивного потенціалу онкологічного процесу, і власних отриманих результатах експресії VEGF у хворих на ВНРГЗ, можна припустити високий ступінь злоякісності даного захворювання [3, 13]. 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 для вибору тактики та моніторингу спеціального лікування, як маркер ангиогенезу, що підтверджують інші дослідники [14]. Виявлений взаємозв'язок рівня VEGF та гормонозалежного рецепторного статусу пухлини дозволяє припустити, що втрата пухлиногормональної залежності може бути асоційована в деяких випадках з підвищеною продукцією ангиогенних факторів.

Таким чином, на підставі отриманих даних рівня VEGF та зіставлення його з клініко-морфологічними особливостями ВНРГЗ, можна зробити припущення відносно значущості й доцільності застосування експресії VEGF для оцінки агресивності пухлинного процесу та подальшого перебігу захворювання.

ВИСНОВКИ

1. Вміст VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ вищий в 3,4 разу, ніж у контрольній групі.

2. Встановлено, що підвищений вміст VEGF у хворих на ВНРГЗ асоціювався з факторами несприятливого прогнозу пухлинного процесу (злоякісністю пухлини (G), ураженням лімфовузлів (N+), проліферативною активністю пухлини (Ki-67), гормонорезистентністю (відсутність рецепторів стероїдних гормонів) та гіперекспресією Her-2/neu).

3. Не виявлено вірогідної різниці між рівнем VEGF та гістологічним варіантом ВНРГЗ, локалізацією, розміром пухлини, менопаузним статусом та віком хворих.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Герштейн Е. С. Биологические маркеры рака молочной железы: методологические аспекты и клинические рекомендации / Е. С. Герштейн, Н. Е. Кушлинский // Маммология. — 2005. — № 1. — С. 65–70.
2. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease / J. Folkman // Nat Med. — 1995. — Vol. 1. — P. 27–31.
3. Кушлинский Н. Е. Роль фактора роста эндотелия сосудов при раке молочной железы / Н. Е. Кушлинский, Е. С. Герштейн // Бюлл. эксперим. биол. медицины. — 2002. — № 133. — С. 604–12.
4. Ferrara N. The role of VEGF in the regulation of physiological and pathological angiogenesis / N. Ferrara // EXS. — 2005. — Vol. 94. — P. 209–31.
5. Gasparini G. Prognostic value of vascular endothelial growth factor in breast cancer / G. Gasparini // Oncologist. — 2000. — Vol. 5, Suppl. 1. — P. 37–44.
6. Prognostic correlation of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in 1307 primary breast cancer / B. K. Linderholm, B. Lindh, L. Bekman et al. // Clin Breast Cancer. — 2003. — Vol. 4, N 5. — P. 340–7.
7. High tumor levels of vascular endothelial growth factor predict poor response to systemic therapy in advanced breast cancer / J. A. Foekens, H. A. Peters et al. // Cancer Res. — 2002. — Vol. 61, N 14. — P. 5407–14.
8. Набряковий рак грудної залози: клінічна картина, перебіг та лікування (огляд літератури та результати власних досліджень) / І. І. Смоланка, І. В. Ляшенко та ін. // Клин. онкологія. — Киев, 2016. — Т. 21, № 1. — С. 28–31.
9. Иммуногистохимическая диагностика гормонорецепторного статуса рака молочной железы с прогнозом основных направлений противоопухолевой лекарственной терапии / Ю. В. Крылов, О. В. Лесничая, А. Ю. Крылов, Е. Ю. Крылов // Вестн. ВГМУ — 2015. — Т. 14, № 3. — С. 72–75.
10. Locally recurrent or metastatic breast cancer: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up / F. Cardoso, M. Castiglione. ESMO Guidelines Working Group // Annals of Oncology. — 2009. — Vol. 20, Sup. 4. — P. IV15–IV18.
11. Ki-67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer / M. C. U. Cheang, S. K. Chia, D. Voduc et al. // Journal of the National Cancer Institute. — 2009. — Vol. 101. — P. 736–750.
12. Prognostic value of a combined ER, PgR, Ki 67, HER2 immunohistochemical (IHC4) score and comparison with the GNI recurrence score — results from Trans ATAC / J. Cuzick, M. Dowsett, J. Salter, E. Quinn et al. // Cancer Research. — 2009. — P. 69–74.
13. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза / В. П. Чехонин, С. А. Шеин, А. А. Корчагина, О. И. Гурина // Вестн. РАМН. — 2012. — № 2. — С. 23–34.
14. Новак О. С. Ангиогенез у розвитку злоякісних пухлин: теоретичні і практичні аспекти / О. С. Новак, І. О. Лісняк, В. Ф. Чехун // Онкологія. — 2002. — Т. 4, № 4. — С. 244–251.

Стаття надійшла до редакції 4.10.2016.

А. Н. БЕЛЫЙ^{1,2}, Н. В. КРАСНОСЕЛЬСКИЙ¹, Н. А. МИТЯЕВА¹, Л. В. ГРЕБЕНИК¹, А. А. РАДЧЕНКО¹

¹ ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины», Харьков

² Харьковский национальный медицинский университет

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ VEGF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ВТОРИЧНО-ОТЕЧНЫМ РАКОМ ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Цель работы. Выяснить возможную связь между содержанием маркера ангиогенеза сывороточного VEGF в сыворотке крови больных вторично-отечным раком грудной железы (ВОРГЖ) и главными клинико-морфологическими характеристиками заболевания.

Материалы и методы. Обследовано 20 женщин, больных ВОРГЖ, в возрасте 38–75 лет, лечившихся в ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины» в период с января 2015 по июль 2016 года. Группу контроля составили 10 практически здоровых женщин, сопоставимых по возрасту. Содержание сывороточного VEGF в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов «Вектор-Бест» (Россия) до и после лечения.

Результаты. Содержание VEGF в сыворотке крови обследованных больных ВОРГЖ до начала специфического лечения было выше в 3,4 раза, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Экспрессия VEGF у больных ВОРГЖ ассоциировалась с факторами неблагоприятного прогноза (злокачественностью опухоли и пролиферативной активностью опухоли (Ki-67), гормонорезистентностью (отсутствие рецепторов стероидных гормонов) и гиперэкспрессией Her-2/neu).

Выводы. Доказано, что биологическая активность опухоли находится в прямой зависимости от повышенного содержания VEGF в сыворотке крови больных. Данный маркер можно использовать в качестве возможного фактора неблагоприятного прогноза течения заболевания.

Ключевые слова: неoadьювантная полихимиотерапия, фактор роста эндотелия сосудов, ангиогенез, вторично-отечный рак грудной железы.

A. N. BELIY^{1,2}, M. V. KRASNOSELSKIY¹, N. A. MITRYAEVA¹, L. V. GREBENIK¹, A. A. RADCHENKO¹

¹ *SI «Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv*

² *Kharkiv National Medical University*

THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF VEGF IN THE SERUM OF PATIENTS WITH SECONDARY EDEMATOUS BREAST CANCER

The purpose of the study is to ascertain possible interaction between the content of blood VEGF angiogenesis marker in patients with secondary edematous breast cancer (SEBC) and the main clinical morphological characteristics of the disease.

Materials and methods. The study involved 20 women with SEBC aged from 38 to 75, undergoing treatment at S. P. Grigoriev Institute for Medical Radiology from January 2015 to July 2016. The control group was made up by 10 healthy women with due regard for age criteria. The content of serum VEGF in blood serum was assessed by means of enzyme immunoassay using «Vector-best» standard kits (Russia) before treatment.

Outcomes. The content of VEGF in blood serum in examined SEBC patients before the onset of specific treatment was 3.4 times higher than that one in the control group ($p < 0.05$). The expression of VEGF in SEBC patients was associated with prognostic factors (tumor malignancy and proliferative tumor activity (Ki-67), hormoneresistance (lack of steroid hormone receptors) and overexpression of Her-2/neu).

Conclusions. It has been proved that the biological activity of the tumor is in direct dependence on increased content of VEGF in blood serum of patients. It can be used as a factor of unfavorable prognosis of the disease.

Keywords: neoadjuvant chemotherapy, vascular endothelial growth factor, angiogenesis, secondary edematous breast cancer

Контактна інформація:

Білий Олександр Миколайович

доцент кафедри онкології Харківського національного медичного університету

пр. Науки, 4, м. Харків, 61022, Україна

тел.: +38 (067) 280-73-89

e-mail: abely@ukr.net