

УДК 616.24-006.6+615.849:576.385.5

ВІРА ВАСИЛІВНА КАРВАСАРСЬКА, НАТАЛІЯ АНДРІЇВНА МІТРЯЄВА,
НАТАЛІЯ ВОЛОДИМИРІВНА БІЛОЗОР, ЛІДІЯ ВОЛОДИМИРІВНА ГРЕБІНИК,
ВІКТОР ПЕТРОВИЧ СТАРЕНЬКИЙ

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

ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ ФАКТОРА РОСТУ ЕНДОТЕЛІЇ СУДИН ПРИ ПРОМЕНЕВІЙ ТЕРАПІЇ НЕДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІ

Мета роботи. Визначити прогностичну значущість сироваткового фактора VEGF у хворих на недрібноклітинний рак легені (НДРЛ) для оцінки ефективності променевої терапії (ПТ).

Матеріали і методи. Обстежено 61 хворого на НДРЛ в віці від 40 до 80 років. Ці пацієнти лікувалися в ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України» і отримали курс конформної ПТ на лінійному прискорювачі Clinac 600С у плані послідовного хіміопроменевого лікування. В групу контролю ввійшли 20 практично здорових людей. Проведено загальне клінічне, морфологічне і рентгенологічне обстеження всіх пацієнтів. Вміст VEGF у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу з використанням стандартних наборів «Вектор-Бест» (Росія) до і після променевої терапії.

Результати. Для оцінки прогностичної значущості VEGF — потужного стимулятора ангиогенезу пухлин — було проаналізовано зміни його рівня в сироватці крові хворих на НДРЛ залежно від об'єктивної відповіді на ПТ, за якою оцінювали безпосередній ефект лікування через один місяць та визначені зміни рівня VEGF залежно від загальної і безрецидивної виживаності хворих на НДРЛ, за якою оцінювали найближчі результати лікування. Встановлено, що чутливість НДРЛ до променевої терапії пов'язана з рівнем експресії VEGF. Визначено, що рівень VEGF у динаміці лікування корелює з об'єктивною відповіддю на променево-терапію НДРЛ, що підтверджує прогностичну значущість активатора ангиогенного фактора. З'ясовано, що гіперекспресія VEGF є несприятливим прогностичним фактором для показників часу до прогресування та загальної виживаності у хворих на НДРЛ при проведенні променевого лікування.

Висновки. Динамічні зміни показників VEGF у сироватці крові хворих на НДРЛ при ПТ на фоні аналізу об'єктивної відповіді на лікування можуть бути визначені як додаткові прогностичні критерії оцінки ефективності лікування.

Гіперекспресія VEGF як визначальний фактор оцінки агресивності пухлинного процесу є прогностичним фактором для виявлення ефективності ПТ, часу до прогресування і виживаності хворих на НДРЛ.

Ключові слова: променево-терапія, фактор росту ендотелію судин (VEGF), ангиогенез, недрібноклітинний рак легені.

Проблема удосконалення протипухлинного лікування недрібноклітинного раку легені (НДРЛ) є актуальною і соціально значущою. Однак залишаються невирішеними питання використання різних режимів променевої терапії для індивідуального підходу до лікування хворих на НДРЛ [1, 2]. На сьогодні ще недостатньо існуючих прогностичних факторів для контролю за ефективністю променевого лікування НДРЛ. У зв'язку з цим актуальність пошуку нових маркерів для моніторингу ефективності променевого лікування НДРЛ на підставі сучасних поглядів на молекулярно-біологічні аспекти канцерогенезу і досягнень радіаційної онкології є очевидною.

Основними проявами злоякісного росту пухлин вважають її необмежене інвазивне зростання і метастазування. Неоангиогенез — формування нових судин — є важливою патологічною ланкою, що підтримує вищезазначені властивості пухлини.

Особливості ангиогенезу — важливого механізму пухлинного процесу, зокрема при НДРЛ — активно вивчаються багатьма дослідниками. До недавнього часу основною характеристикою активності неоангиогенезу в пухлині була оцінка мікроскопічної щільності судин у тканинах. Однак у результаті інтенсивного вивчення механізмів ангиогенезу за останні 5–10 років було виявлено певні регуляторні про- і антиангиогенні фактори, динамічний баланс яких визначає ефективність процесів утворення

© В. В. Карвасарська, Н. А. Мітряєва, Н. В. Білозор,
Л. В. Гребіник, В. П. Старенький, 2017

нових судин. Провідна роль серед таких регуляторів належить фактору росту ендотелію судин (VEGF). Рівень експресії VEGF — потужного стимулятора ангиогенезу — має суттєве значення для прогнозування виникнення певних злоякісних новоутворень, а також впливає на чутливість пухлин до лікувальних заходів. Гіперекспресія цього маркера пов'язана з погіршенням прогнозу [3, 4].

Таким чином, експресія білкових продуктів, які контролюють процеси ангиогенезу, може відтворювати індивідуальні особливості пухлини і виступати як маркер прогнозу злоякісного процесу, що слід використовувати для моніторингу ефективності протипухлинного лікування. Вивчення регуляторів ангиогенезу відкриває можливості їх використання для оцінки ефективності хіміопроменевої терапії НДРЛ, що, ймовірно, сприятиме індивідуалізації терапевтичного підходу. Однак ще недостатньо досліджене прогностичне значення VEGF за умов дії променевої терапії НДРЛ, у зв'язку з чим вбачається перспективним вивчення цього показника як маркера контролю ефективності променевої терапії НДРЛ.

Мета даної роботи — визначення прогностичної значущості сироваткового фактора VEGF у хворих на НДРЛ для оцінки ефективності променевої терапії.

МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 61 хворого на НДРЛ віком 40–80 років (медіана — 64,1 р.). Ці пацієнти лікувалися в Державній установі «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України» у 2014–2016 роках і отримали курс конформної ПТ на лінійному прискорювачі Clinac 600С у плані послідовного хіміопроменевого лікування. Групу контролю склали 20 практично здорових осіб, порівнянних за віком і статтю. Серед хворих на НДРЛ налічувалося 16 жінок (26 %) та 45 чоловіків (74 %). Усі пацієнти пройшли загальне клінічне обстеження. Отримано морфологічне та цитологічне підтвердження діагнозу, проведено рентгенологічне дослідження органів грудної, черевної порожнини, малого таза та головного мозку на комп'ютерному томографі Toshiba Aquilon 64 з метою виявлення поширеності пухлинного процесу в усіх хворих на НДРЛ. Пацієнти були проінформовані про дослідження і дали на нього згоду.

Хворі за стадіями розподілялися таким чином: II стадія (T1-2N1M0) діагностована у 8 хворих, III стадія (T3N0-1M0, T2-3N2-3M0) — у 53. Взагалі у 4 хворих встановлена II А стадія (6,5 %), ще у 4 — II В (6,5 %), у 29 пацієнтів (48 %) визначена III А стадія хвороби, III В стадія діагностована у 24 хворих (39 %).

Конформну ПТ проводили на лінійному прискорювачі Clinac 600С. Використовували режим класичного фракціонування (разова осередкова доза 2 Гр 1 раз на добу, 5 разів на тиждень). Опромінення проводили в 2 етапи: 1-й етап включав опромінення первинного вогнища і зон регіонарного метастазування РОД 2 Гр, СОД 40 Гр, після перерви в 2 тижні проводили 2-й етап опромінення первинного вогнища — РОД 2 Гр до СОД 60 Гр.

Рівень VEGF визначали у сироватці крові хворих на недрібноклітинний рак легені методом ІФА з використанням стандартних наборів реактивів ЗАО «Вектор-Бест», Росія.

Для визначення вмісту фактора ангиогенезу VEGF кров у пацієнтів забирали до початку опромінення та після лікування (5 мл периферичної крові центрифугували при 3 тис. об/хв протягом 15 хв). Отриману сироватку заморозували і зберігали при температурі мінус 20 °С.

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакета статистичних програм для ПК Statistica при використанні параметричних (Ст'юдента–Фішера) та непараметричних методів для малих вибірок, дані подавали як медіану, квартилі, мінімальне і максимальне значення та порівнювали їх між групами за допомогою критерію Манна–Уїтні або критерію Вілкоксона при порівнянні парних вибірок, розбіжності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Коефіцієнт рангової кореляції визначали методом Спірмена, оцінку виживаності проводили методом Каплана–Мейєра.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На першому етапі роботи було проаналізовано зміни рівня VEGF у сироватці крові хворих на НДРЛ залежно від об'єктивної відповіді на променево-терапію, за якою оцінювали безпосередній ефект ПТ через один місяць. За даними клініко-інструментальних досліджень у 5 (9 %) пацієнтів була визначена часткова регресія пухлини, у 33 (60 %) — стабілізація пухлинного процесу, у 17 (31 %) — його прогресування.

Після лікування регресія пухлини супроводжувалась у 100 % випадків зниженням рівня VEGF у 2,7 разу ($p < 0,05$) порівняно з показниками до лікування, стабілізація пухлинного процесу в 56 % — зниженням у 1,7 разу ($p < 0,05$) або у 18 % — відсутністю вірогідних змін; у 26 % хворих — підвищенням вмісту VEGF, при прогресуванні процесу в усіх пацієнтів рівень VEGF залишався високим (табл. 1). Визначено кореляційний зв'язок між початковими значеннями VEGF у сироватці крові та його показниками після проведення променевої терапії у хворих із регресією пухлини ($r = 0,4$), стабілізацією процесу ($r = 0,5$) і прогресією ($r = 0,5$), однак залежність не мала статистично значимого характеру при прогресії та при деяких випадках стабілізації процесу, що, ймовірно, зумовлено обмеженою вибіркою.

Таким чином, динамічні зміни показників VEGF у сироватці крові хворих на НДРЛ при променево-терапії на фоні аналізу об'єктивної відповіді на лікування можуть бути визначені як додаткові прогностичні критерії оцінки безпосередньої ефективності лікування.

На другому етапі роботи для оцінки прогностичної значущості VEGF було проаналізовано зміни рівня VEGF залежно від загальної та безрецидивної виживаності хворих на НДРЛ, за якою оцінювали найближчі результати лікування. Усі хворі були поділені на групи: зі збільшенням VEGF (понад 30 % — 31

Співвідношення між об'єктивною відповіддю і рівнем VEGF у динаміці конформної променевої терапії в різних групах обстежених

Об'єктивна відповідь	VEGF, пг/мл			
	n	Медіана (квартилі)		K
		До лікування	Після лікування	
Регресія	5	480# (371–520)	180* (140–234)	2,7
Стабілізація	19	624# (470–729)	363* (308–421)	1,7
	6	582# (420–721)	534 (385–696)	1,1
	9	376# (364–417)	520 (420–721)	0,7
Прогресія	16	906# (732–1268)	934 (698–1340)	0,9
Група порівняння	20	162 (124–218)		

Примітки: * — значущість відмінностей між показниками до та після лікування, $p < 0,05$ (критерій Вілкоксона); # — значущість відмінностей відносно групи порівняння, $p < 0,05$ (критерій Манна-Уїтні).

особа) — група VEGF1, та зі зменшенням VEGF (понад 30 % — 30 осіб) — група VEGF2. Зміни рівня маркера VEGF оцінювалися до початку лікування в порівнянні з рівнем маркера через місяць після курсу конформної променевої терапії. Дані представлені на рис. 1.

Як видно з рисунка 1, у першій групі зі значним збільшенням рівня маркера VEGF (група VEGF1) однорічна виживаність склала 91 %, в порівнянні з другою групою зі значним зниженням рівня VEGF (група VEGF2), де цей показник складав 100 %, дворічна виживаність становила 65 та 77 % відповідно. У хворих зі збільшенням рівня маркера більш ніж на 30 % у процесі лікування, в порівнянні з його рівнем до початку променевої терапії, прогноз життя залишається несприятливим.

Найближчі результати ефективності лікування оцінювалися також за безрецидивним періодом (або безрецидивною виживаністю) — часом після радикального лікування до появи рецидивів або віддалених метастазів.

Для оцінки безрецидивного періоду залежно від змін рівня маркера VEGF до та після ПТ усі хворі були поділені на групи: зі збільшенням VEGF (понад 30 %) — група VEGF1 та зі зменшенням VEGF (понад 30 %) — група VEGF2. Зміни рівня маркера VEGF оцінювалися до початку лікування в порівнянні

з рівнем маркера через місяць після курсу конформної променевої терапії. Дані представлені на рис. 2.

Як видно з рис. 2, у групі зі значним збільшенням рівня маркера VEGF (група VEGF1) однорічний безрецидивний період пододало 72,5 % хворих у порівнянні з групою зі значним зниженням рівня VEGF (група VEGF2), де цей показник склав 89,5 %, а дворічний безрецидивний період склав 59 та 61 % відповідно.

Отже, гіперекспресія VEGF є несприятливим прогностичним фактором для показників часу до прогресування та загальної виживаності у хворих на НДРЛ при проведенні променевого лікування.

Таким чином, показано, що чутливість НДРЛ до променевої терапії пов'язана з рівнем експресії VEGF — потужного стимулятора ангиогенезу пухлин [5]. За даними наукової літератури, гіперекспресія маркера корелює з погіршенням прогнозу захворювання через агресивність пухлинного процесу, оскільки відомо, що у клітинах РЛ активація VEGF інгібує апоптоз, стимулює ангиогенез, швидкість інвазії, метастатичний потенціал, пухлинну проліферацію [6]. Зниження рівня VEGF корелює зі сприятливим прогнозом захворювання. Отже, результати досліджень дозволяють оцінити прогностичну роль вмісту VEGF як маркера ефективності променевого лікування НДРЛ і підтвердити його значущість та доцільність використання для оптимізації ПТ.

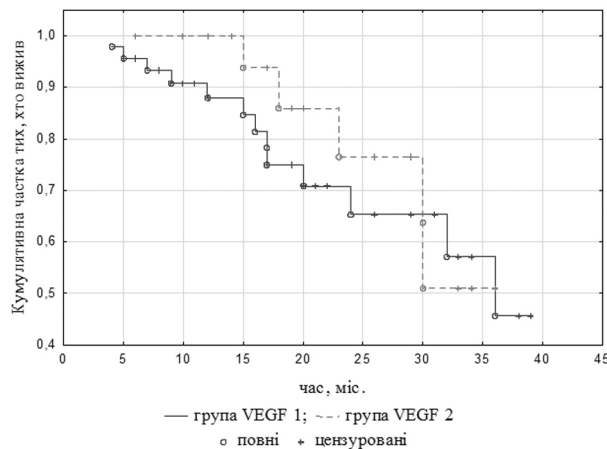


Рис. 1. Криві загальної виживаності хворих на НДРЛ за Капланом–Мейером залежно від рівня VEGF у сироватці крові

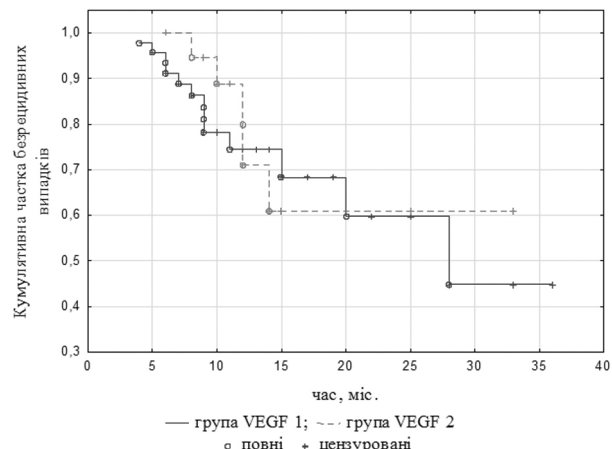


Рис. 2. Криві безрецидивної виживаності хворих на НДРЛ за Капланом–Мейером залежно від рівня VEGF у сироватці крові

ВИСНОВКИ

1. Динамічні зміни показників VEGF у сироватці крові хворих на НДРЛ при променевої терапії на фоні аналізу об'єктивної відповіді на лікування можуть бути визначені як додаткові прогностичні критерії оцінки ефективності лікування.

2. Гіперекспресія VEGF як визначальний фактор оцінки агресивності пухлинного процесу є прогностичним фактором для виявлення ефективності ПТ, часу до прогресування і виживаності хворих на НДРЛ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Сакаева Д. Д. Современное состояние проблемы терапии немелкоклеточного рака легкого / Д. Д. Сакаева // *Практ. онкол.* — 2013. — Т.14, № 1. — С. 59–67.
2. Inhibition of endothelial growth factor receptor signaling leads to reversal of tumor resistance to radiotherapy / L. Geng, E. Donnelly et al. // *Cancer Res.* — 2001. — N 61. — P. 2413–2419.
3. 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.
4. Is the vascular endothelial growth factor responsible for the malignancy of lung cancer / P. Rogozinski, K. Brulinski, E. Malinowski et al. // *Pol. Merkur. Lekarski.* — 2012. — Vol. 33, N 196. — P. 213–216.
5. Michalis Alevizakos. The VEGF pathway in lung cancer / Michalis Alevizakos, Serfim Kaltsas, Konstantinos Syrigos // *Cancer Chemother Pharmacol.* — 2013. — N 72. — P. 1169–1181.
6. Salgia R. Prognostic significance of angiogenesis and angiogenic growth factors in non-small-cell lung cancer / R. Salgia // *Cancer.* — 2011. — Vol. 117, N 17. — P. 3889–3899.

Стаття надійшла до редакції 13.03.2017.

В. В. КАРВАСАРСКАЯ, Н. А. МИТРЯЕВА, Н. В. БЕЛОЗОР, Л. В. ГРЕБЕННИК, В. П. СТАРЕНЬКИЙ

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

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Цель работы. Определить прогностическую значимость сывороточного фактора VEGF в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) для оценки эффективности лучевой терапии (ЛТ).

Материалы и методы. Обследован 61 больной НМРЛ в возрасте от 40 до 80 лет, которые проходили лечение в ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины». Пациенты прошли курс дистанционной ЛТ на линейном ускорителе Clinac 600С в плане последовательного химиолучевого лечения. В группу контроля вошли 20 практически здоровых людей. Проведено общее клиническое и морфологическое обследование всех пациентов. Содержание сывороточного VEGF в крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов «Вектор-Бест» (Россия) до и после лучевой терапии.

Результаты. Для оценки прогностической значимости VEGF — сильнейшего стимулятора ангиогенеза опухоли — были проанализированы изменения его уровня в сыворотке крови больных НМРЛ в зависимости от объективного ответа на ЛТ, по которому оценивали непосредственный эффект лечения спустя один месяц и определяли изменения уровня VEGF в зависимости от общей и безрецидивной выживаемости больных НМРЛ. Установлено, что чувствительность НМРЛ к ЛТ связана с уровнем экспрессии VEGF. Определено, что уровень VEGF в динамике лечения коррелирует с объективным ответом на лучевую терапию НМРЛ, это подтверждает прогностическую значимость активатора ангиогенного фактора. Выявлено, что гиперэкспрессия VEGF — неблагоприятный прогностический фактор для показателей времени до прогрессирования и общей выживаемости у больных НМРЛ при лучевой терапии.

Выводы. Динамические изменения показателей VEGF в сыворотке крови больных НМРЛ при ЛТ на фоне анализа объективного ответа на лечение могут использоваться как дополнительные прогностические критерии оценки эффективности лечения.

Гиперэкспрессия VEGF как определяющий фактор оценки агрессивности опухолевого процесса является прогностическим фактором для определения эффективности ЛТ, времени до прогрессирования и выживаемости больных НМРЛ.

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

V. KARVARSARSKAYA, N. MITRYAEVA, N. BELOZOR, L. GREBENIK, V. STARENKYI

SI Grigoriev Institute for Medical Radiology of NAMS of Ukraine

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF GROWTH FACTOR EXPRESSION OF VASCULAR ENDOTHELIUM IN RADIATION THERAPY OF LUNG CANCER

The purpose of the study is to determine prognostic significance of VEGF serum factor in patients with non small cell lung cancer (NSCLC) in order to estimate the effectiveness of radiation therapy.

Materials and methods. The study enrolled 61 patients with NSCLC aged from 40 to 80 years who underwent treatment at SI Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Science of Ukraine. The patients were examined and provided with a course of conformal radiation therapy on the linear accelerator Clinac 600C within the scope of consecutive chemoradiotherapy. The control group included 20 apparently healthy people. The general clinical, morphological and x-ray examination of all patients was carried out. VEGF content in blood serum was assessed by means of enzyme immunoassay using standard Vector-Best (Russia) before and after radiotherapy.

Outcomes. In order to make an assessment of prognostic significance of VEGF, as a potent stimulator of angiogenesis of tumors, the changes of its level in blood serum of patients with NSCLC depending on objective response to radiation therapy, were analyzed. The response was used to estimate a direct effect of the treatment in one month and to identify changes of VEGF level depending on the overall and recurrence-free survival of patients with NSCLC.

The sensitivity of NSCLC to radiation therapy is associated with the expression VEGF level. It has been established that, in the process of the treatment, VEGF level correlates with objective response to radiation therapy NSCLC, which confirms the prognostic value of angiogenic factor activator. VEGF over-expression was revealed to be a poor prognostic factor for time values before progression and overall survival in patients with NSCLC during radiation treatment.

Conclusions. Dynamic changes of VEGF indicators in blood serum in patients with NSCLC in the course of radiation therapy on the background of the analysis of objective response to treatment can be defined as additional prognostic criteria for treatment efficiency assessment.

The overexpression of VEGF, as a determining factor in assessing aggressiveness of tumor, is a prognostic factor for detection efficiency of radiotherapy, time prior to progression and survival of patients with NSCLC.

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

Контактна інформація:

Мітряєва Наталія Андріївна

д-р біол. наук, ст. наук. співробітник, завідувач лабораторії радіаційної ендокринології ДУ ІМП НАМН України

вул. Пушкінська, 82, м. Харків, 61024, Україна

тел. +38 (057) 704-10-798

e-mail: endokrin_lab@mail.ru