
ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

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

ФАКТОР РОСТУ ЕНДОТЕЛІУ СУДИН ТА ВМІСТ ЕНДОСТАТИНУ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА НЕДРІБНОКЛІТИННИЙ РАК ЛЕГЕНІ ПРИ ПРОМЕНЕВІЙ ТЕРАПІЇ

Мета роботи. Дослідження сироваткових рівнів VEGF і ендостатину та їх співвідношення у хворих на недрібноклітинний рак легені (НДРЛ) у динаміці променевої терапії (ПТ).

Матеріали і методи. Обстежено 16 хворих на НДРЛ III стадії. Пацієнти лікувалися в ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України» і отримали курс ПТ на лінійному прискорювачі Clinac 600C. Серед хворих на НДРЛ налічувалося 3 жінки та 13 чоловіків. Групу контролю склали 10 практично здорових осіб, порівнянних за віком і статтю. Проведено загальне клінічне, морфологічне і рентгенологічне обстеження всіх пацієнтів. Вміст VEGF та ендостатину в сироватці крові визначали методом імуоферментного аналізу з використанням стандартних наборів «Вектор-Бест» (Росія) та R&D Systems (США) до і після ПТ.

Результати. Проведено дослідження сироваткових рівнів VEGF і ендостатину та їх співвідношення у хворих на НДРЛ у динаміці ПТ і доведено, що змінюються вміст VEGF, ендостатину та співвідношення VEGF/ендостатин. Встановлено, що до лікування у хворих на НДРЛ ангіогенний фактор продукується більше, ніж антиангіогенний, тобто збільшення рівня ендостатину не пропорційне збільшенню рівня VEGF — баланс порушується. Це призводить до ангіогенного прогресування раку. Після ПТ у таких пацієнтів спостерігається неоднорідна зміна рівнів VEGF, ендостатину та їх співвідношення залежно від ефективності лікування.

Висновки. Доведено, що вміст VEGF, ендостатину та їх співвідношення у сироватці крові 94 % хворих на НДРЛ до початку ПТ є вірогідно вищим, ніж у групі контролю.

Встановлено зміни балансу ангіогенних та антиангіогенних факторів (VEGF/ендостатин) у динаміці ПТ у таких хворих на фоні об'єктивної відповіді на лікування, що може бути прогностичним маркером для оцінки ефективності ПТ.

Ключові слова: променева терапія, фактор росту ендотелію судин (VEGF), ендостатин, 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, у тому числі променевої терапії (ПТ), є актуальною і соціально значимою. Однак існує чимало труднощів у визначенні прогностичних ознак для індивідуального підходу до вибору тактики променевого лікування та моніторингу його ефективності. Отже

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

актуальність пошуку нових маркерів для контролю ефективності променевого лікування недрібноклітинного раку легені (НДРЛ) на підставі сучасних поглядів на молекулярно-біологічні аспекти канцерогенезу і досягнень радіаційної онкології є очевидною.

Ангіогенез — формування нових судин, це важлива патологічна ланка, що підтримує зростання пухлини. Він регулюється балансом проангіогенних і антиангіогенних факторів. Найбільш значним стимулятором неоангіогенезу у пухлинах є фактор росту ендотелію судин (VEGF). Одним із ключових інгібіторів

ангіогенезу вважають ендостатин [3]. Співвідношення VEGF/ендостатин відображає баланс ангіогенного шляху. Втім ще недостатньо досліджена експресія регуляторних факторів ангіогенезу (VEGF, ендостатин) та їх співвідношення за умов дії променевої терапії на НДРЛ і не визначена їх прогностична роль для моніторингу ефективності лікування.

Метою роботи було дослідження сироваткових рівнів VEGF і ендостатину та їх співвідношення у хворих на НДРЛ у динаміці ПТ.

МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 16 хворих на НДРЛ III стадії (T3N0-1M0, T2-3N2-3M0), медіана віку — 64,1 р. Пацієнти лікувалися в ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України» у 2014–2016 роках і отримали курс конформної ПТ на лінійному прискорювачі Clinac 600С. Серед хворих на НДРЛ налічувалося 3 жінки та 13 чоловіків. Групу контролю склали 10 практично здорових осіб, порівнянних за віком і статтю. 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.

Променеву терапію проводили на лінійному прискорювачі Clinac 600С. Використовували режим класичного фракціонування — разова осередкова доза (РОД) 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 фактора росту ендотелію судин (VEGF) визначали у сироватці крові хворих на НДРЛ методом ІФА з використанням стандартних наборів реактивів ЗАО «Вектор-Бест», Росія.

Рівень ендостатину визначали у сироватці крові хворих на НДРЛ методом ІФА з використанням комерційних наборів реактивів фірми R&D Systems (США).

Для визначення вмісту факторів ангіогенезу VEGF і ендостатину 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 заморожували і зберігали при температурі мінус 20 °С.

Усі дослідження виконувалися під контролем Комітету з біоетики інституту. Обстежені пацієнти були проінформовані про дослідження і дали згоду на його проведення.

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакета статистичних програм для ПК «Statistica» при використанні параметричних (Стьюдента–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 $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Рівні VEGF і ендостатину в сироватці крові хворих на НДРЛ до лікування представлені у вигляді коробчастих графіків на рис. 1–3.

Як видно із представлених даних на рис. 1, до лікування концентрація сироваткового VEGF була у 94 % пацієнтів вищою у 4 рази (медіана 594 пг/мл, квартилі 418–746), ніж у контрольній групі (медіана 147 пг/мл, квартилі 80–189) ($p < 0,05$). Сироватковий рівень ендостатину у хворих на НДРЛ до лікування (медіана 3,59 нг/мл, квартилі 2,62–4,23) був вищим у 2,4 рази, ніж у контрольній групі (медіана 1,48 нг/мл, квартилі 1,28–1,50) ($p < 0,05$) (рис. 2). Співвідношення рівнів VEGF/ендостатин також було вищим у 1,5 рази у хворих на НДРЛ (медіана 165, квартилі 129–255), ніж у групі контролю (медіана 109, квартилі 76–126) (рис. 3). Отже показано, що у хворих на НДРЛ ангіогенний фактор (VEGF) продукується більше, ніж антиангіогенний інгібітор (ендостатин), що призводить до підсилення ангіогенезу, тобто підвищення рівня ендостатину не пропорційне підвищенню рівня VEGF. Отримані результати мають статистично значимий характер (критерій Манна–Уїтні, $p < 0,05$) і узгоджуються з даними інших дослідників [4].

Після лікування у хворих із регресією пухлини спостерігається зниження рівня VEGF у 1,6 рази (416 пг/мл проти 257 пг/мл після лікування) на фоні практично незмінного високого рівня ендостатину (5,2 нг/мл та 4,83 нг/мл після лікування) та зниження коефіцієнта їх співвідношення (80 проти 53 після лікування), тобто покращується баланс про- та антиангіогенних факторів, що приводить до нормалізації пухлинної васкуляризації і свідчить про ефективність ПТ.

При прогресії пухлинного процесу після ПТ у хворих визначено підвищення рівня VEGF (699,6 пг/мл до лікування проти 713,8 пг/мл після лікування), зниження рівня ендостатину (1,97 нг/мл проти 3,06 нг/мл до лікування) та підвищення коефіцієнта їх співвідношення (з 230 до 350), це, можливо, пов'язано з механізмами регуляції поведінки самої пухлини, яка індукує викид ангіогенних факторів та пригнічує продукцію інгібіторів ангіогенезу, що створює умови для росту пухлини за рахунок розростання нової мережі судин, що є несприятливою ознакою та пов'язано, можливо, з резистентністю пухлини до проведеної ПТ і подальшим несприятливим перебігом хвороби [3, 4].

У випадках стабілізації пухлинного процесу спостерігається неоднорідна зміна рівнів VEGF та ендостатину у динаміці променевої терапії. Так, у 60 % пацієнтів було зниження рівня VEGF (медіана — 425,8 пг/мл проти медіани 306,3 пг/мл після лікування) при практично незмінному рівні ендостатину (медіана — 3,36 нг/мл проти 2,92 нг/мл до лікування) та зниження коефіцієнта їх співвідношення (зі 124 до 92), тобто у цій підгрупі хворих поліпшується протипухлинний баланс про- та антиангіогенних факторів. Але слід зазначити, що у 40 % пацієнтів

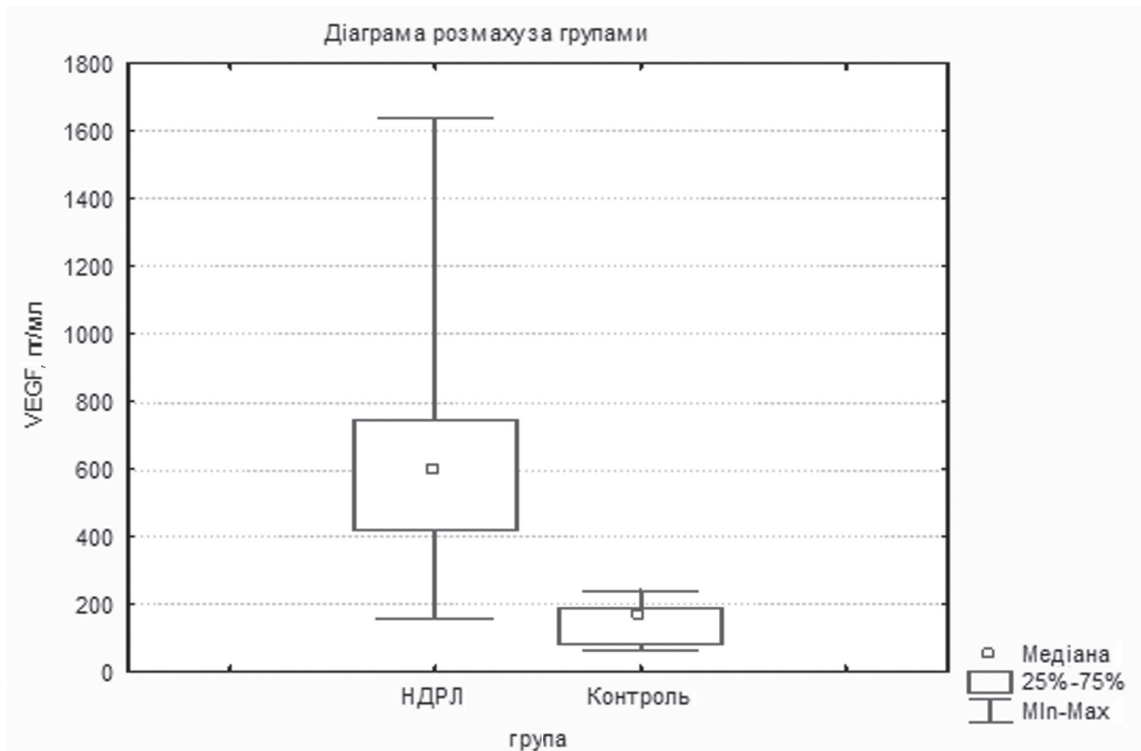


Рис. 1. Діаграма (коробчастий графік) медіани рівнів VEGF у хворих на НДРЛ до лікування та в осіб контрольної групи

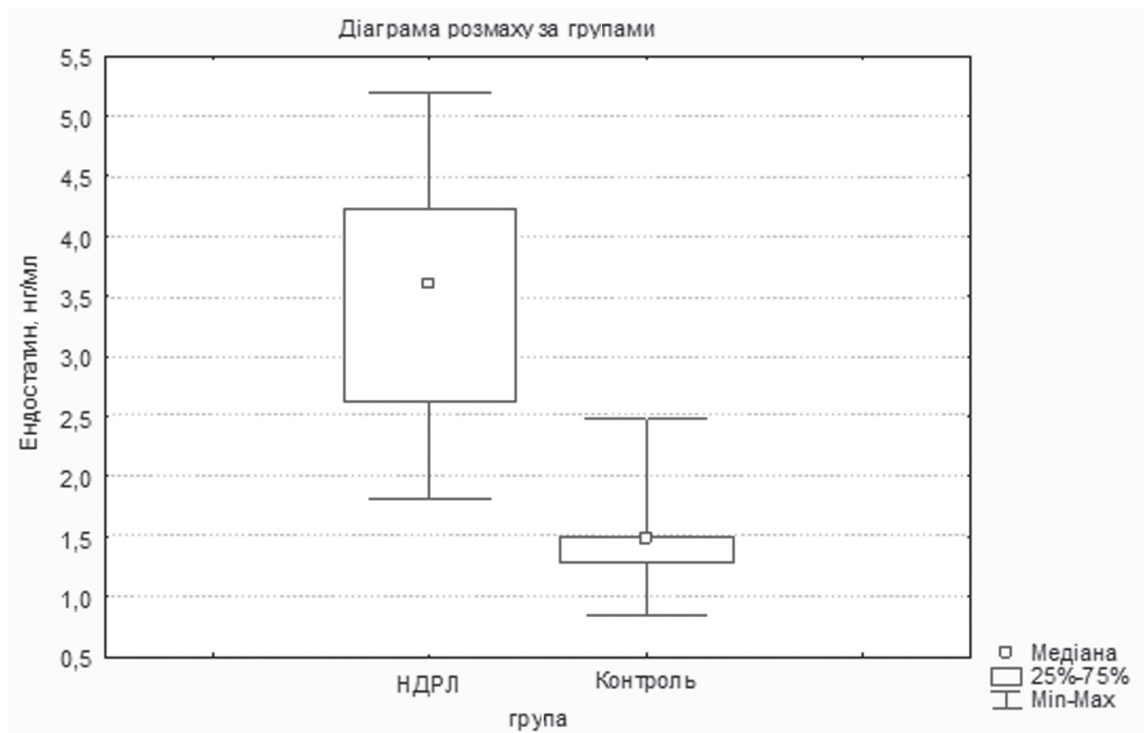


Рис. 2. Рівні ендостатину в хворих на НДРЛ до лікування та в осіб контрольної групи

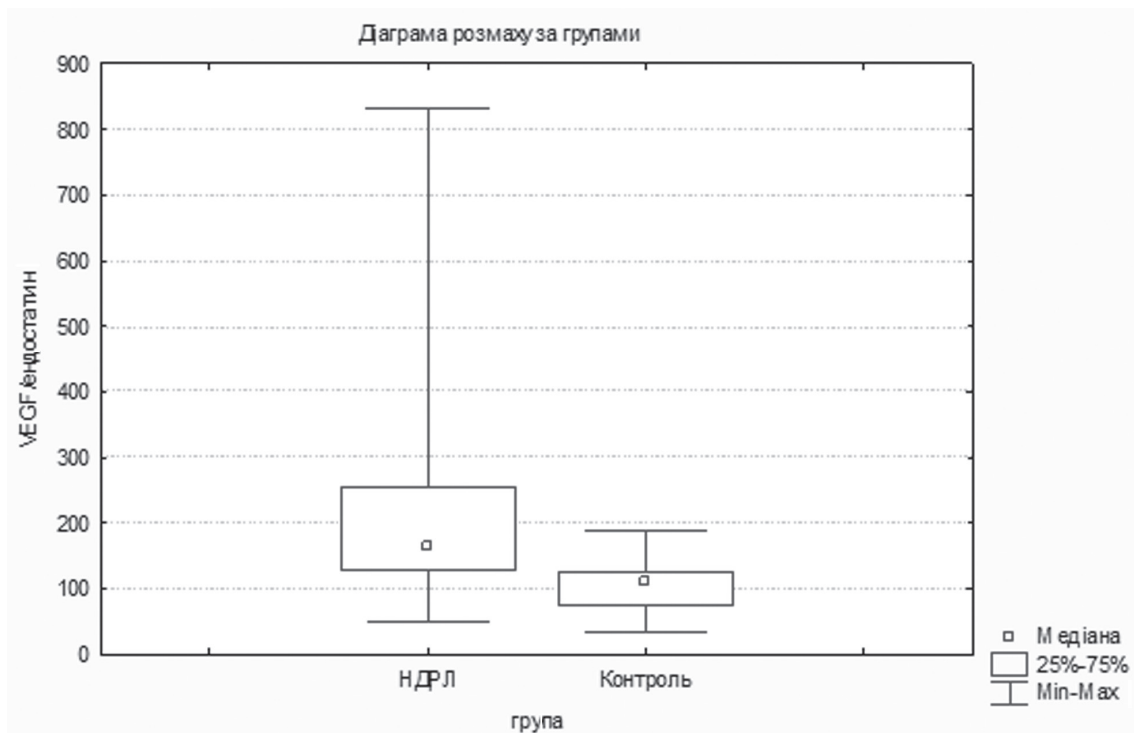


Рис. 3. Співвідношення VEGF/ендостатин у хворих на НДРЛ до лікування та в осіб контрольної групи

зі стабілізацією процесу з високим рівнем VEGF (до лікування медіана — 1109 пг/мл проти 967,2 пг/мл після лікування), який суттєво не змінився після ПТ, вміст ендостатину знижувався (медіана — 2,8 нг/мл проти 3,56 нг/мл до лікування), а коефіцієнт залишався стабільно високим (364 проти 377 до лікування), що свідчить про можливий ризик розвитку рецидиву НДРЛ та необхідність вибору оптимальної терапії після променевого лікування для цієї підгрупи хворих.

Таким чином, доведено, що у динаміці конформної променевої терапії змінюються вміст VEGF, ендостатину та співвідношення VEGF/ендостатин. Так, знайдено, що до лікування у хворих на НДРЛ ангіогенний фактор продукується більше, ніж антиангіогенний, тобто збільшення рівня ендостатину не пропорційне збільшенню рівня VEGF — баланс факторів порушується. Це призводить до ангіогенного прогресування раку [5]. Після ПТ у хворих на НДРЛ спостерігається неоднорідна зміна рівнів VEGF, ендостатину

та їх співвідношення залежно від ефективності лікування. Важливу роль відіграє порушення співвідношення ангіогенних (VEGF) та антиангіогенних (ендостатин) факторів. Підвищена експресія VEGF порівняно з низькою експресією ендостатину забезпечує формування та розвиток нових судин усередині пухлини, що створює сприятливі умови для росту пухлини та знижує ефективність ПТ [6].

ВИСНОВКИ

1. Доведено, що вміст VEGF, ендостатину та їх співвідношення у сироватці крові 94 % хворих на НДРЛ до початку ПТ є вірогідно вищим, ніж у групі контролю.

2. Встановлено порушення балансу ангіогенних та антиангіогенних факторів (VEGF/ендостатин) у динаміці ПТ у хворих на НДРЛ на фоні об'єктивної відповіді на лікування, що може вважатися прогностичним маркером для оцінки ефективності ПТ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Рак легкого* / под ред. П. Лоригана. — М. : Рид Элсивер, 2009. — 195 с.
2. *Рак в Україні, 2014–2015. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби* / уклад.: З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович та ін. // Бюл. нац. канцер-реєстру України. — Київ, 2016. — № 17. — 142 с.
3. *Эндостатин: современные представления о его роли и механизмах действия* / А. В. Дигтярь, Н. В. Позднякова, Н. Б. Фельдман и др. // Биохимия. — 2007. — Т. 72, № 3. — С. 291–305.
4. *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.
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. *Imbalance between vascular endothelial growth factor and endostatin correlates with the prognosis of operable non-small cell lung cancer* / Y. Hu, M. Hu, G.-l. Shi, Y. Han et al. // *J. Cancer Surgery*. — 2014. — Vol. 40. — P. 1136–1142.

Стаття надійшла до редакції 04.04.2017.

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

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

ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И СОДЕРЖАНИЕ ЭНДОСТАТИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Цель работы. Определить сыровоточные уровни VEGF, эндостатина и их соотношение у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) в динамике лучевой терапии (ЛТ).

Материалы и методы. Обследованы 16 больных НМРЛ III стадии, которые находились на лечении в ГУ ИМП НАМНУ. Пациенты прошли курс ЛТ на линейном ускорителе Clinac 600С. Среди больных НМРЛ было 3 женщины и 13 мужчин. В группу контроля вошли 10 практически здоровых людей. Проведено общее клиническое, морфологическое и рентгенологическое обследование всех пациентов. Содержание сыровоточного VEGF в крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов «Вектор-Бест» (Россия) и R&D Systems (США) до и после ЛТ.

Результаты. Проведено исследование сыровоточных уровней VEGF, эндостатина и их соотношения у больных НМРЛ в динамике ЛТ. Доказано, что изменяется содержание VEGF, эндостатина и их соотношение. Установлено, что до лечения у больных НМРЛ ангиогенный фактор продуцируется больше, чем антиангиогенный, то есть увеличение уровня эндостатина не пропорционально увеличению уровня VEGF — баланс нарушается. Это приводит к ангиогенному прогрессированию рака. После ЛТ у таких пациентов наблюдается неоднородное изменение уровней VEGF, эндостатина и их соотношение в зависимости от эффективности лечения.

Выводы. Доказано, что содержание VEGF, эндостатина и их соотношение в сыровотке крови 94 % больных НМРЛ до начала лечения достоверно выше, чем в группе контроля.

Установлены изменения баланса ангиогенных и антиангиогенных факторов (VEGF/эндостатин) в динамике ЛТ таких больных на фоне объективного ответа на лечение, что может быть прогностическим маркером для оценки эффективности ЛТ.

Ключевые слова: лучевая терапия, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), эндостатин, ангиогенез, немелкоклеточный рак легкого.

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

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

VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AND ENDOSTATIN IN BLOOD SERUM OF PATIENTS NON-SMALL-CELL LUNG CANCER IN RADIATION THERAPY

The purpose of the research is to study serum levels of VEGF and endostatin and VEGF/endostatin ratio in patients with NSCLC in radiation therapy (RT) over time.

Materials and methods. The study enrolled 16 patients with NSCLC of stage III. The patients underwent treatment at SI Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Science of Ukraine and completed a course of RT on the linear accelerator Clinac 600C. The patients with NSCLC were represented by 3 women and 13 men. The control group included 10 apparently healthy people. The general clinical, morphological and x-ray examination of all patients was carried out. The content of VEGF and endostatin in blood serum was determined by means of the method of enzyme multiplied immunoassay with the use of the standard Vektor-Best sets (Russia) before and after radiation therapy.

Outcomes. The study of serum levels of VEGF and endostatin and VEGF/endostatin ratio in patients with NSCLC in PT was conducted over time. It has been proved that in the course of radiation therapy the content of VEGF,

endostatin and the ratio of VEGF/endostatin changes. It has been found that before treatment, in patients with NSCLC the angiogenic factor is produced more than antiangiogenic one. In other words, endostatin level increase is not proportional to the VEGF level increase; the balance is impaired. It leads to angiogenic cancer progression. After RT in patients with NSCLC, a non-uniform change in levels of VEGF, endostatin and VEGF/endostatin ratio depending on effectiveness of treatment is observed.

Conclusions. The level of VEGF, endostatin and VEGF/endostatin ratio in patients were assessed in radiation therapy over time. It has been proved that the content of VEGF, endostatin and VEGF/endostatin ratio in blood serum in 94% of patients with NSCLC prior to RT is significantly higher than in the control group. The changes in the balance of angiogenic and antiangiogenic factors (VEGF/endostatin) in RT over time in patients with NSCLC associated with the objective response to treatment have established. It can be a predictive marker for evaluating the effectiveness of RT.

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

Контактна інформація:

Мітряєва Наталія Андріївна

д-р біол. наук, зав. лабораторії радіаційної ендокринології ДУ ІМР НАМН

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

тел. +38 (057) 704-10-79

e-mail: endokrin_lab@mail.ru