

## ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ РОЛИ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ (VEGF) ПРИ РАКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ (РТК)

*Штабинская Т.Т.,\* Боднар М.,\*\* Ляликов С.А.,\* Маршалэк А.К.,\*\* Басинский В.А.\**

*\*Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно*

*\*\*Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu M. Kopernika w Toruniu*

Обширные экспериментальные данные подтверждают, что ангиогенез играет центральную роль в процессе развития опухоли, а VEGF является доминирующим проангиогенным фактором. VEGF стимулирует рост клеток эндотелия сосудов, способствует их сохранению и пролиферации. В доклинических моделях было показано, что VEGF также обеспечивает сохранение уже имеющихся сосудов, способствует появлению структурных и функциональных нарушений (например, извилистости и повышенной проницаемости) [1]. Повышение проницаемости приводит к увеличению интерстициального и внутриопухолевого давления, способствуя проникновению опухолевых клеток в сосудистое русло [2]. Связь между уровнем ангиогенеза в опухолях различной локализации и метастазированием подтверждена корреляцией между течением заболевания и экспрессией VEGF в первичной опухоли. Хотя такая связь не всегда бывает абсолютной, определение уровня экспрессии VEGF предлагается использовать в качестве маркера неблагоприятного прогноза [3]. Целью нашего исследования явилась оценка прогностической значимости уровня экспрессии VEGF в РТК.

**Материалы и методы исследования.** Исследован операционный материал 72 пациентов (29 мужчин и 43 женщин) с гистологически верифицированными РТК. Исследование проводили на парафиновых срезах толщиной 3–4 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином, иммуногистохимическое - выполнено с использованием мышиных моноклональных антител к VEGF 1 (ab1316) в разведении 1:100. Демпарафинизацию и демаскировку антигенов осуществляли с помощью PT Link. Срезы инкубировали с первичными антителами на протяжении 18 часов при +4°C. В качестве вторичных антител и пероксидазного комплекса использовали стандартный набор EnVision (фирма «Dako», Дания). Для визуализации реакции применяли раствор диаминобензидина DAB+ (фирма «Dako», Дания). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера. Контрольный срез оставляли без первой инкубации. Оценку уровня экспрессии проводили в паренхиме и строме опухоли с двадцатикратным увеличением объектива в 5 полях зрения, так называемых «hot-spot». Для оценки уровня экспрессии была использована шкала Remmele-Stegner. Статистический анализ проводили с использованием SPSS 8.0 (статистический пакет для социальных наук 8.0).

**Результаты и их обсуждение.** Возраст пациентов колебался от 37 до 81 лет, при этом у мужчин он был от 46 до 81 лет ( $65,65 \pm 0,05$  лет), у женщин - от 37 до 80 лет ( $63,65 \pm 0,02$  лет). Преобладали больные старше 60 лет (76%). С помощью теста Спирмена была выявлена отрицательная корреляция между показателями уровня экспрессии VEGF и возрастом пациентов, т.е. у пациентов старших возрастных групп количество позитивно окрашенных клеток, интенсивность окрашивания и, а также, индекс иммунореактивности в паренхиме и строме опухоли оказался ниже ( $p=0,04$ ). У большинства пациентов опухоль развивалась в дистальных отделах (59 случаев – 81,94%). Наличие регионарных метастазов отмечено у 44 пациентов (61,1%). При этом N1 был выставлен в 33 случаях, а N2 в 11, соответственно. Прорастание в соседние органы и ткани выявлено в 6 случаях (8,3%). На момент постановки диагноза у 12 больных (16,6%) имелись гематогенные метастазы, у семерых (58,3%) из них в течение 5 лет появились новые. Больные РТК на момент операции в 11 случаях (15,4%) имели I стадию, в 14 случаях (19,4%) – II стадию, в 33 (45,8%) – III и в 14 (19,4%) – IV. С помощью теста Kruskal-Wallis выявлена более высокая экспрессия VEGF, интенсивность окрашивания и индекс иммунореактивности в паренхиме и строме опухоли пациентов на ранних стадиях заболевания ( $p=0,02$ ). При гистологическом исследовании во всех случаях опухолей выявлена аденокарцинома разной степени дифференцировки: G1 обнаружен у 29 (40,2%) больных, G2 – 26 (36,1%), G3 у 15 (20,8%) больных и G4 – у 2 (2,9%). Статистически значимые уровни экспрессии VEGF в зависимости от степени дифференцировки отображены в таблице 1.

Таблица 1. Зависимость экспрессии VEGF от дифференцировки опухоли

Показатели экспрессии		Грейд				P
		1	2	3	4	
Раковые клетки	RS	20,0 (19,0-20,0)	20,0 (19,0-20,0)	0,0 (0,0-19,0)	0 (0,0-0,0)	0,000*
	SI	11,0 (10,0-12,5)	11,0 (9,0-12,0)	0,0 (0,0-10,0)	0 (0,0-0,0)	0,004*
	IRS	41,5 (40,0-48,0)	44,0 (36,0-48,0)	0,0 (0,0-40,0)	0 (0,0-0,0)	0,0003*
Клетки стромы	RS	10,5 (19,0-20,0)	12,0 (7,0-18,0)	0,0 (0,0-11,0)	0 (0,0-0,0)	0,0069*
	SI	7,5 (4,0-10,0)	6,5 (5,0-8,0)	0,0 (0,0-5,0)	0 (0,0-0,0)	0,0037*
	IRS	18,0 (9,5-29,0)	21,0 (12,0-28,0)	0,0 (0,0-16,0)	0 (0,0-0,0)	0,0038*

Примечание: а) Результаты в таблице написаны в формате: Me (Q25-Q75); б) RS – % окрашенных клеток по шкале Remelle-Stegner; в) SI – интенсивность; г) IRS- индекс иммунореактивности (RS\*SI); \* - статистически значимые различия.

Как видно из таблицы, экспрессия VEGF в паренхиме и строме опухоли с потерей дифференцировки снижается. Обратила на себя внимание прогностическая гетерогенность пациентов высокодифференцированных

опухолей (G1-2), поскольку 23 больных КРР (42,6%) не перешагнули 5-летний рубеж выживаемости. Сравнительный анализ экспрессии VEGF, выявил наличие у них молекулярно-биологической разнородности. У пациентов не перешагнувших 5-летний рубеж выживаемости, количество позитивно экспрессирующих VEGF клеток, больше по сравнению с пациентами, проживших более 5 лет после верификации диагноза. У 24 больных (33,33%) с течением времени возникли рецидивы, при этом у половины из них в течение первых двух лет после оперативного лечения, у остальных в течение пяти лет. В среднем рецидивировали опухоли через 2,24 года (1,75-3,43). Высокие показатели экспрессии VEGF в паренхиме опухоли положительно коррелировали со временем наступления рецидива ( $p=0,019$ ), т.е. чем больше количество окрашенных опухолевых клеток, тем позже наступал рецидив. Средняя продолжительность жизни пациентов после постановки диагноза составила 3,37 года (2,10-4,79), при этом выявлена ее положительная корреляция с экспрессией VEGF как в строме, так и в паренхиме опухоли. За период наблюдения умерло 39 пациентов (54,17%), при этом 30 из них – в течение первых 5 лет. Тест Mann-Whitney показал, что интенсивность экспрессии и индекс иммунореактивности в паренхиме опухоли ниже у пациентов, не проживших 5 лет после постановки диагноза ( $p=0,05$ ).

**Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о том, характер экспрессии VEGF может использоваться для оценки прогноза клинического течения рака толстой кишки, в первую очередь таких показателей, как время наступления рецидива и 5-летняя выживаемость. Однако такая связь не всегда бывает абсолютной, что может свидетельствовать о молекулярно-биологической гетерогенности новообразований даже в пределах сходных морфологических и клинических групп и требует анализа экспрессии других маркеров влияющих на процесс ангиогенеза.

#### Литература

1. Ferrara, N. The biology of VEGF and its receptors / N. Ferrara, H.P. Gerber, J. LeCouter // *Nature Med.* – 2003. – № 9(6). – P. 669–676.
2. Lee T.H. Vascular endothelial growth factor modulates the transendothelial migration of MDA-MB-231 breast cancer cells through regulation of brain microvascular endothelial cell permeability / T.H. Lee, H.K. Avraham, S. Jiang et al. // *J. Biol. Chem.* – 2003. – № 278 (7). – P. 5277–5284.
3. Weidner N., Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma / N. Weidner, J.P. Semple, W.R. Welch et al. // *N. Engl. J. Med.* – 1991. – № 324(1). – P. 1–8.