

Л. А. Державец

*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь*

ФАКТОРЫ РОСТА, АНГИОГЕНЕЗА И МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

В статье представлены данные о содержании факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и их рецепторов (VEGF, EGF, FGF, TNF- α , sICAM, sPECAM, эндостатин, p55, p185) в биологических жидкостях пациентов, страдающих раком мочевого пузыря I–IV стадии. В исследование были включены 945 онкологических пациентов и 120 клинически здоровых лиц. Диагноз рака мочевого пузыря верифицировали морфологически. Все вышеперечисленные лабораторные показатели определяли методом иммуноферментного анализа до начала всех видов обследования и специального лечения. Для обработки полученных результатов использовали непараметрические методы статистики. В ходе исследования выявлены информативные показатели для дооперационной оценки степени инвазии опухоли мочевого пузыря (sICAM, VEGF, sPECAM, p55, p185, FGF), количества опухолевых очагов (p185, sICAM, p55, FGF, TNF- α), степени злокачественности (VEGF, p55, sPECAM, sICAM, p185, эндостатин) опухолевого процесса. Для оценки интегральной диагностической информативности исследуемых показателей использовали метод построения характеристических ROC-кривых с расчетом площади под этими кривыми. Определяли диагностическую чувствительность и диагностическую специфичность каждого показателя.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря; факторы роста, ангиогенеза и межклеточной адгезии; диагностическая информативность.

L. A. Derzhavets

N. N. Alexandrov National Cancer Center, Minsk, Republic of Belarus

FACTORS OF GROWTH, ANGIOGENESIS AND INTERCELLULAR ADHESION FOR EVALUATION OF BLADDER CANCER SPREAD

The article provides the data on the concentrations of factors of growth, angiogenesis, intercellular adhesion and their receptors (VEGF, EGF, FGF, TNF- α , sICAM, sPECAM, endostatin, p55, p185) in body fluids of stage I–IV bladder cancer patients. 945 cancer patients and 120 clinically healthy individuals were included in the study. Bladder cancer was morphologically verified in all cases. The above-mentioned laboratory indices were evaluated by immunoassay before the beginning of examination or treatment. Results were analyzed using nonparametric statistics. Informative indices for preoperative assessment of tumor invasion (sICAM, VEGF, sPECAM, p55, p185, FGF), the number of tumor foci (p185, sICAM, p55, FGF, TNF- α) and tumor grade (VEGF, p55, sPECAM, sICAM, p185, endostatin) were identified. ROC curves were plotted and AUCs were calculated to assess the diagnostic value of the indices. The sensitivity and specificity of all indices were evaluated.

Keywords: bladder cancer, factors of growth, angiogenesis, intercellular adhesion, diagnostic value.

Введение. В настоящее время пристальное внимание исследователей уделяется проблеме неоангиогенеза в злокачественных опухолях, в том числе и при раке мочевого пузыря (РМП), так как уже не вызывает сомнения тот факт, что рост опухоли невозможен без образования разветвленной сети сосудов, обеспечивающих снабжение клеток кислородом и питательными веществами. Интерес к этой проблеме возник более 40 лет назад, когда J. Folkman [1] сформулировал концепцию зависимости опухолевого роста и метастазирования от кровоснабжения опухоли. И лишь относительно недавно, последние 10–15 лет, в результате изучения молекулярных механизмов ангиогенеза продемонстрировано наличие целого ряда регуляторных проангиогенных и антиангиогенных факторов, динамический баланс которых и обеспечивает формирование и распространение новых сосудов внутри опухоли [2, 3]. Индукция «ангиогенного переключения» происходит тогда, когда баланс вышеуказанных факторов сдвигается в сторону проангиогенных.

Дискоординация между воздействием проангиогенных и антиангиогенных субстанций приводит к формированию незрелых сосудов с нарушенной структурой сосудистой стенки, неправильной архитектоникой. Такая «неполноценность» во многом компенсируется повышенной проницаемостью этих сосудов и их большей плотностью на единицу площади [4].

В регуляции ангиогенеза тем или иным образом участвуют многие известные факторы роста и цитокины: основные и кислые факторы роста фибробластов (FGF), эпидермальный фактор роста (EGF), α - и β -трансформирующие факторы роста, тромбоцитарный фактор роста эндотелиальных клеток, факторы межклеточной адгезии (sICAM, sPECAM) [5]. Факторы роста – полипептиды, объединенные в группу трофических регуляторных субстанций. Подобно гормонам, эти факторы обладают широким спектром биологического воздействия на многие клетки – стимулируют или ингибируют митогенез, хемотаксис, дифференцировку. В отличие от гормонов, факторы роста, как правило, продуцируются неспециализированными клетками, находящимися во всех тканях, и обладают эндокринным, паракринным и аутокринным действием. Эти факторы вырабатываются и транспортируются к удаленным клеткам-мишеням через кровотоки. Достигая своей «цели», они взаимодействуют со специализированными высокоаффинными рецепторами клеток-мишеней [6].

Важнейшим положительным регулятором ангиогенеза является фактор роста эндотелия сосудов (Vascular Endothelial Growth Factor — VEGF). VEGF влияет на развитие новых кровеносных сосудов (ангиогенез) и выживание незрелых кровеносных сосудов (сосудистая поддержка), связываясь с двумя близкими по строению мембранными тирозинкиназными рецепторами (рецептором-1 VEGF и рецептором-2 VEGF) и активируя их. Эти рецепторы экспрессируются клетками эндотелия стенки кровеносных сосудов. Связывание VEGF с этими рецепторами запускает сигнальный каскад, который в конечном итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосуда, их выживание и пролиферацию [7].

В отдельных исследованиях показано, что при РМП увеличивается как экспрессия VEGF опухолевыми клетками, так и содержание его в сыворотке крови [8]. Подъем уровня VEGF в крови и в моче рассматривается в качестве показателя рецидивов и прогрессирования опухолевого процесса [9, 10]. Однако однозначного мнения о роли VEGF в патогенезе РМП не существует. При иммуногистохимических исследованиях биоптатов установлено, что уровень экспрессии VEGF клетками рака выше, чем при доброкачественных образованиях. Наибольшие значения этого показателя выявлены при распространенных формах рака [11]. Однако, по данным других исследователей, различия в показателях экспрессии VEGF при раке и доброкачественных опухолях статистически недостоверны [12].

Другим ведущим регулятором неоангиогенеза является фактор роста фибробластов. В целом ростовые факторы семейства FGF обладают широким спектром мишеней и разной биологической активностью. Они являются мощными модуляторами клеточной дифференцировки, пролиферации, подвижности и выживаемости. Возможная роль факторов роста фибробластов при таком патологическом процессе, как канцерогенез, стала очевидной после обнаружения в этом семействе протоонкогенов. Кроме активации фибробластов в плане пролиферативного эффекта, клетками-мишенями FGF являются эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов, хондроциты, меланоциты и др. Клинические данные подтверждают роль FGF в опухолевом неоангиогенезе. Так, повышение уровня этого фактора коррелирует со степенью агрессивности процесса при многих солидных опухолях, в том числе и при РМП, лейкозах, лимфомах у детей и взрослых, и может служить прогностическим фактором агрессивности опухолевого процесса [6, 13].

Эпидермальный фактор роста (EGF — Epidermal Growth Factor, урогастрон), впервые выделенный из слюнных желез мыши, впоследствии обнаружен во многих нормальных и патологически измененных тканях, в крови, моче, цереброспинальной жидкости, молоке, слюне, желудочном и панкреатическом соке. Повышенная экспрессия EGF усиливает инвазию и метастазирование опухоли, запуская целый каскад внутриклеточных процессов, инициирующих клеточную пролиферацию и ряд других биологических эффектов, ответственных за опухолевую прогрессию: адгезию и инвазию трансформированных клеток, включение антиапоптотических механизмов [14].

Активация и гиперэкспрессия клеточных онкогенов, как известно, играет важную роль в развитии злокачественных опухолей различной этиологии. Одним из важнейших продуктов экспрессии

онкогенов является рецептор, известный как Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (HER-2), HER-2/neu или c-erbB-2. Молекулярная масса рецептора HER-2/neu составляет 185 кДа, поэтому его также иногда называют белком p185. Гиперэкспрессия белка p185 характерна для большинства злокачественных новообразований. В качестве рецептора фактора роста p185 может быть вовлечен в регуляцию клеточного роста и трансформации. Наличие у p185 как внутриклеточной, так и экстраклеточной части приводит к тому, что в процессе димеризации может происходить деградация молекулы рецептора и миграция его внеклеточного домена в межклеточную среду и кровь. Так как внеклеточный домен p185 поступает в кровь, то, возможно, его определение в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа способно заменить (или дополнить) исследования на тканевом уровне [15–17].

Клетки поддерживают связь друг с другом и с внеклеточным матриксом посредством специальных структур, компонентами которых являются иммуноглобулиноподобные молекулы межклеточной адгезии, кадхерины, интегрины, селектины, а также десмосомы и полудесмосомы. Опухолевые клетки в процессе инвазии вступают во взаимодействие с клетками и различными структурами внеклеточного матрикса, сосудистым эндотелием благодаря широкому спектру молекул межклеточной адгезии, локализующихся на поверхности как опухолевых, так и нормальных эндотелиальных клеток и клеток, циркулирующих в кровотоке. В связи с этим такие адгезивные гликопротеины, как молекула межклеточной адгезии ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) и молекула тромбоцитарно-эндотелиальной адгезии PECAM-1 (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1), могут выступать в роли факторов инвазии и прогрессирования опухолевого процесса. В последнее время в ряде работ приводятся данные о возможности исследования ICAM-1 и PECAM-1 для диагностики и прогноза РМП [18–20].

Важную роль в нарушении процессов пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток при неотрансформации играет фактор некроза опухоли TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α). TNF- α – мощный паракринный и аутокринный медиатор воспаления и иммунного ответа, который принимает участие в патогенезе различных заболеваний, включающих онкологическую патологию. Участие TNF- α в патологии легко можно определить по связыванию с рецепторным белком p55. Белок p55, или растворимый рецептор фактора некроза опухоли TNF-R1, известный также как CD120a, экспрессируется клетками большинства тканей. Он стабилизирует циркулирующий TNF- α и увеличивает период полураспада данного фактора. Высокий уровень растворимого p55 в крови является чувствительным маркером активно прогрессирующих, постоянно рецидивирующих и метастазирующих опухолей [21–23].

В настоящее время доказано, что эндогенные ингибиторы ангиогенеза – один из главных факторов предупреждения активного перехода к клинически манифестируемым этапам онкологических заболеваний человека. Одним из наиболее активных естественных антиангиогенных соединений является эндостатин – протеолитический фрагмент коллагена XVIII типа. Показана высокая противоопухолевая активность эндостатина *in vivo*: белок подавляет прогрессию более 60 различных опухолей [24, 25].

Таким образом, исследование вышеперечисленных факторов при онкологической патологии мочевого пузыря является актуальным. Несмотря на то что в последние годы накапливается все больше данных о нарушениях нормальной экспрессии и функционирования факторов роста, ангиогенеза и межклеточной адгезии при РМП, их влияние на клиническое течение и прогноз заболевания изучено недостаточно. В настоящее время нет сведений о диапазоне значений и пороговых величинах каждого из рассматриваемых выше лабораторных показателей для мышечно-инвазивного и немышечно-инвазивного РМП, нет данных о чувствительности и специфичности этих параметров для прогноза РМП, не сформирована клиничко-лабораторная концепция их использования в онкологии.

Цель данного исследования – оценка диагностической информативности факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и растворимых форм их рецепторов для определения распространенности рака мочевого пузыря (стадия заболевания, степень инвазии, количество опухолевых очагов, степень злокачественности).

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования послужили данные 945 пациентов (772 мужчин и 173 женщин) с впервые установленным диагнозом РМП, получавших

лечение в отделении онкоурологической патологии Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова в 2002–2010 гг. Возраст пациентов варьировался от 25 до 85 ($65,3 \pm 11,2$) лет. Диагноз РМП устанавливали на основании клинико-инструментальных методов исследования с обязательной морфологической верификацией. Группу контроля составили 120 клинически здоровых лиц, сопоставимых с основной группой по полу ($p = 0,50$) и возрасту ($p = 0,49$). Распространение опухолевого процесса определяли в соответствии с Международной классификацией злокачественных новообразований TNM. I стадия опухолевого процесса, немышечно-инвазивный рак (T1N0M0), диагностирована у 552 пациентов, II (T2a–bN0M0) – у 193, III (T3a–b, 4aN0M0) – у 102 и IV стадия (T4bN0M0, T1–4N1–3M0, T1–4N0–3M1) – у 98 пациентов. Степень дифференцировки опухоли определялась при ее морфологической верификации. В зависимости от степени дифференцировки (Grade) пациенты, страдающие немышечно-инвазивным РМП, распределились следующим образом: G1 (высокая степень дифференцировки) – 362 пациента, G2 (средняя степень дифференцировки) – 156, G3 (низкая степень дифференцировки) – 34 пациента. У 266 пациентов с немышечно-инвазивным раком обнаружен единичный опухолевый очаг в мочевом пузыре, у 286 – множественные опухолевые очаги. У всех обследованных пациентов до начала специального лечения проводилось определение в биологических жидкостях концентрации факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и растворимых форм их рецепторов: Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Fibroblast Growth Factor (FGF), Epidermal Growth Factor (EGF), Intercellular Adhesion Molecule (sICAM), Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (sPECAM), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Tumor Necrosis Factor Receptor p55, Transmembrane HER2-neu receptor p185, эндостатин иммуноферментным методом на анализаторе Brio-Sirio “Seac” (Италия) с использованием стандартных наборов.

Статистический анализ полученных результатов выполняли с помощью программного обеспечения STATISTICA 8.0. Математическая обработка лабораторных данных включала проверку нормальности распределения количественных показателей в выборке с использованием критерия Шапиро–Уилка – *W*-test (Shapiro–Wilk’s). Количественные значения показателей, не подчинявшихся нормальному закону распределения, описывали в виде медианно-квартильных характеристик: медианы, 25-го и 75-го перцентилей (Me [25%–75%]), минимального и максимального значений (min–max). Статистические различия исследуемых показателей определяли с помощью критерия Манна–Уитни – *U*-test (Mann–Whitney). Для анализа взаимосвязи между показателями использовали непараметрический корреляционный анализ Спирмена (Spearman). В качестве критерия статистической значимости принимался уровень значимости $p < 0,05$. Оценка интегральной диагностической информативности исследуемых показателей (диагностической чувствительности – ДЧ, диагностической специфичности – ДС) проведена с помощью построения характеристических ROC-кривых (Receiver Operator Characteristic) и определения площадей под кривыми (AUC – Area Under Curve).

Результаты и их обсуждение. Обнаружено статистически значимое повышение концентрации факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии в крови пациентов, страдающих РМП, по сравнению с таковой у здоровых лиц ($p < 0,0001$). Медиана содержания VEGF в сыворотке крови пациентов с РМП была в 4 раза выше значения, наблюдаемого в контрольной группе. Максимальная концентрация сосудисто-эндотелиального фактора роста у онкологических пациентов составила 1456,8 пг/мл, в то время как в контрольной группе данный показатель не превышал 200,6 пг/мл.

Отмечены значимые различия концентрации sICAM в крови в сравниваемых группах пациентов, страдающих РМП, и в группе контроля ($p < 0,0001$). Максимальное значение sICAM в группе онкологических пациентов – 810,0 нг/мл, что в 6 раз выше, чем в контрольной группе.

Диапазон концентраций sPECAM в контрольной группе составлял от 53,9 до 82,5 нг/мл, а у 70 % онкологических пациентов он превышал верхние значения данного диапазона, достигая 362,0 нг/мл.

Уровни TNF- α и растворимой формы его рецептора p55 в крови онкологических пациентов почти в 2 раза превышали таковые в группе здоровых лиц ($p < 0,0001$).

Медианы концентраций эпидермального фактора роста и его растворимого рецептора p185 в сыворотке крови в 1,6 раза превышали соответствующие медианы в контрольной группе ($p < 0,0001$).

Разброс значений содержания FGF в крови как онкологических пациентов, так и здоровых лиц был значительным и составил 16,7–666,7 пг/мл для пациентов с РМП и 20,3–113,0 пг/мл для лиц группы контроля.

Медиана сывороточной концентрации эндостатина у пациентов, страдающих РМП, в 2,1 раза превышала уровень, наблюдаемый у лиц без онкологической патологии.

Выявлена корреляционная связь сывороточных уровней VEGF ($R = 0,69$; $p = 0,003$), sICAM ($R = 0,74$; $p = 0,002$), sPECAM ($R = 0,67$; $p = 0,005$) со стадией опухолевого процесса. При II стадии заболевания концентрации этих показателей в 1,5 раза превышали значения, наблюдаемые у пациентов с I стадией РМП ($p_{IvsII} < 0,001$). Более выраженное увеличение (в 2–3 раза) медиан концентрации вышеуказанных факторов отмечено при распространенном опухолевом процессе ($p_{IvsIII,IV} < 0,0001$).

Уровень FGF в сыворотке крови пациентов, страдающих РМП, в меньшей степени коррелирует с распространенностью опухолевого процесса ($R = 0,32$; $p = 0,02$). Значимое повышение содержания этого фактора отмечено при II–IV стадии заболевания по сравнению с I стадией ($p_{IvsII,III,IV} < 0,0001$). Медианы сывороточного содержания FGF при II–IV стадии практически не различаются между собой ($p_{IIvsIII,IV} > 0,05$). Значимое ($p < 0,05$) повышение концентрации TNF- α и растворимой формы его рецептора p55 в крови по сравнению с контрольной группой наблюдалось уже при I стадии опухолевого процесса (медианы 11,2 пг/мл и 3,7 нг/мл соответственно). С ростом стадии заболевания концентрации этих показателей повышались более чем в 1,5 раза (17,6 пг/мл и 5,7 нг/мл – II стадия; 22,7 пг/мл и 7,8 нг/мл – III стадия; 32,6 пг/мл и 11,6 нг/мл – IV стадия, $p < 0,001$), что свидетельствует о наличии корреляционной взаимосвязи TNF- α ($R = 0,47$; $p = 0,004$) и p55 ($R = 0,63$; $p = 0,002$) с распространенностью опухолевого процесса. Содержание эпидермального фактора роста и его растворимого рецептора p185 в сыворотке крови также коррелирует со стадией рака мочевого пузыря ($R = 0,56$; $p < 0,001$, $R = 0,61$; $p < 0,0001$ соответственно). Что касается ингибитора ангиогенеза эндостатина, закономерностей, свидетельствующих о существенном изменении уровня этого показателя по мере распространенности опухолевого процесса, выявить не удалось ($p > 0,05$).

Содержание сосудисто-эндотелиального фактора роста и молекул межклеточной адгезии sICAM, sPECAM в сыворотке крови пациентов с мышечно-инвазивным РМП повышено в 1,4–1,9 раза по сравнению с концентрациями, определяемыми у пациентов с немышечно-инвазивным РМП. Концентрации фактора некроза опухоли и его растворимого рецептора p55 повышены в 2 раза, эпидермального фактора роста и его рецептора p185 – в 1,7 раза. Сывороточные уровни ингибитора ангиогенеза эндостатина в обеих исследуемых группах практически одинаковы (табл. 1).

Таблица 1. Содержание факторов роста, ангиогенеза и межклеточной адгезии в сыворотке крови пациентов, страдающих РМП, в зависимости от распространенности опухолевого процесса

Table 1. Factors of growth, angiogenesis, and intercellular adhesion in the blood serum of patients with bladder cancer depending on the prevalence rate of the neoplastic process

Показатель	Группа сравнения	Статистический параметр			
		n	Me [25%–75%]	min–max	p Mann–Whitney
VEGF, пг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	552	282,4 [224,7–355,8]	34,8–1265,6	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	370	509,2 [401,3–742,0]	115,6–1456,8	
sICAM, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	550	128,0 [118,0–142,0]	15,0–456,0	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	368	250,0 [176,0–343,5]	89,0–810,0	
sPECAM, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	550	105,0 [97,3–115,00]	47,3–220,0	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	368	143,10 [125,0–179,8]	70,0–362,0	

Окончание табл. 1

Показатель	Группа сравнения	Статистический параметр			
		<i>n</i>	Me [25%–75%]	min–max	<i>p</i> Mann–Whitney
TNF-α, пг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	550	11,2 [6,7–18,9]	1,02–64,80	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	365	22,6 [12,6–31,9]	1,26–60,26	
p55, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	542	3,7 [2,5–5,0]	1,0–18,0	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	358	7,7 [5,2–10,0]	1,0–36,0	
EGF, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	537	22,6 [18,9–28,8]	5,5–200,5	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	364	36,5 [28,1–48,4]	4,5–285,0	
p185, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	527	5,1 [3,9–6,6]	0,5–12,5	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	353	8,8 [6,8–10,8]	2,5–22,4	
FGF, пг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	549	136,0 [118,3–182,0]	16,7–625,4	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	367	218,7 [188,0–288,0]	17,2–666,7	
Эндостатин, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	552	259,0 [230,0–295,0]	50,0–500,0	0,2316
	Мышечно-инвазивный РМП	371	248,0 [200,7–329,0]	106,2–698,0	

При проведении непараметрического корреляционного анализа Спирмена выявлена умеренная и сильная корреляционная связь с распространенностью опухолевого процесса только 6 показателей: sICAM ($R = 0,70$; $p < 0,0001$), VEGF ($R = 0,66$; $p < 0,0001$), sPECAM ($R = 0,64$; $p < 0,0001$), p55 ($R = 0,58$; $p < 0,0001$), p185 ($R = 0,56$; $p < 0,0001$), FGF ($R = 0,52$; $p < 0,0001$). Анализ чувствительности и специфичности вышеперечисленных показателей проводили с учетом построения характеристических ROC-кривых и определения площади под кривой AUC. Полученные данные представлены на рис. 1.

С целью определения значимости исследуемых показателей для прогнозирования количества опухолевых очагов и степени злокачественности опухоли проведен анализ содержания данных показателей в биологических жидкостях 552 пациентов, страдающих неммышечно-инвазивным РМП. В результате установлено статистически значимое повышение сывороточных уровней факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии у пациентов с множественными опухолевыми очагами в мочевом пузыре по сравнению с таковыми у пациентов, имеющих единичный опухолевый очаг ($p < 0,001$). Уровень ингибитора ангиогенеза эндостатина не зависел от количества опухолевых очагов в мочевом пузыре ($p = 0,3098$).

Непараметрический корреляционный анализ Спирмена показал, что из 9 исследованных лабораторных показателей с количеством опухолевых очагов коррелируют 5: p185, ICAM, p55, FGF, TNF-α ($R = 0,35–0,55$; $p < 0,05$).

Таблица 2. Характеристики ROC-кривых лабораторных показателей

Table 2. Characteristics of the ROC curves of the laboratory indices

Показатель	Чувствительность, %	Специфичность, %	Точка отсечения, ед. изм.	AUC	<i>p</i>
p185, нг/мл	68,8	52,9	4,6	0,64 ± 0,02	<0,0001
sICAM, нг/мл	68,1	51,9	123,9	0,61 ± 0,02	<0,0001
p55, нг/мл	64,0	54,4	3,4	0,62 ± 0,02	<0,0001
FGF, пг/мл	63,9	51,5	132,0	0,60 ± 0,02	<0,0001
TNF-α, пг/мл	62,3	60,8	10,7	0,62 ± 0,02	<0,0001

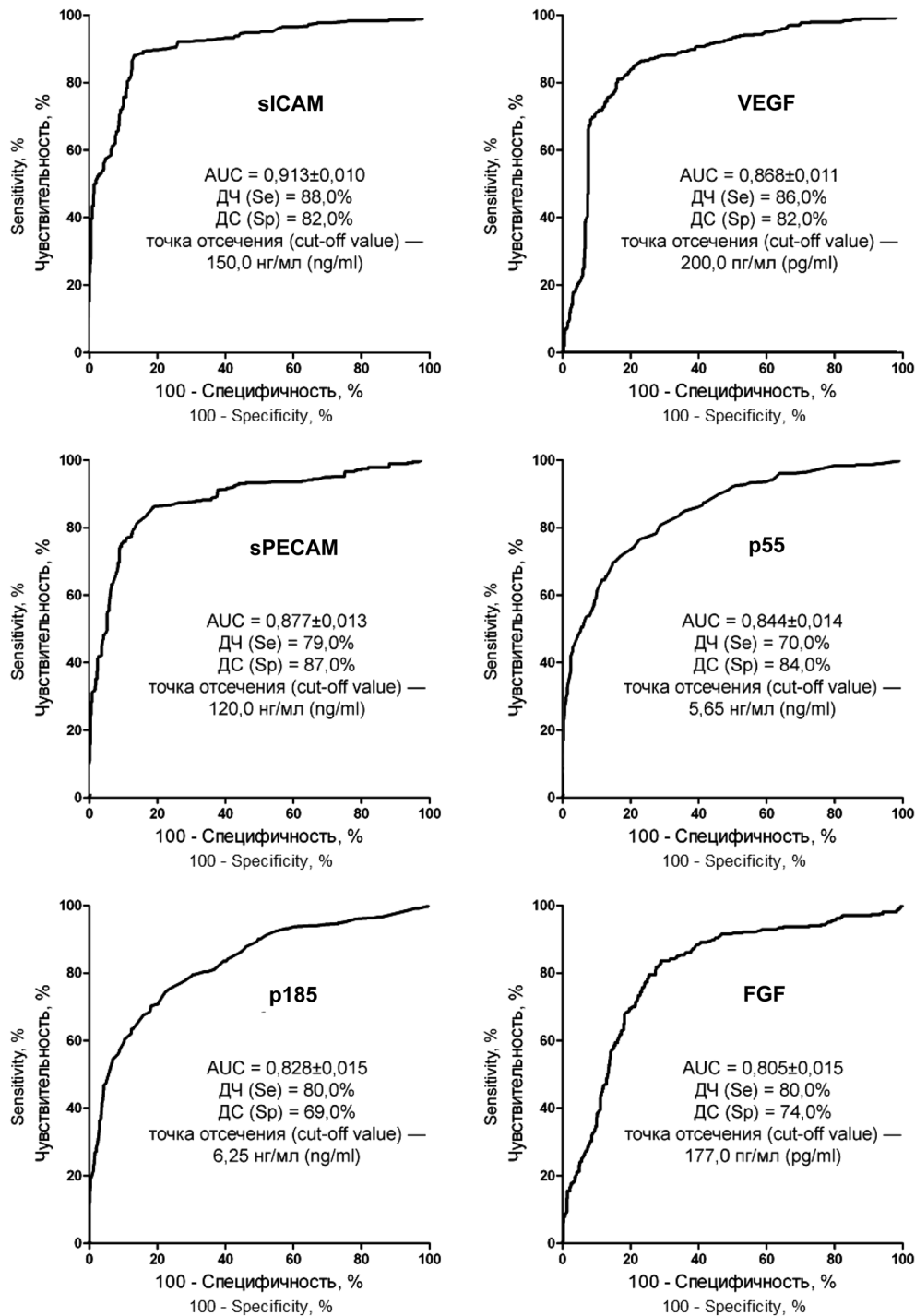


Рис. 1. ROC-кривые лабораторных показателей степени распространенности опухолевого процесса

Fig. 1. ROC curves of the laboratory indices of tumor spread

Анализ информативности вышеперечисленных показателей для определения количества опухолевых очагов проведен с учетом построения характеристических ROC-кривых и определения площади под кривой AUC (табл. 2).

Поскольку высокая степень злокачественности опухоли (G3) является важным прогностически неблагоприятным признаком у пациентов, страдающих РМП, проведена оценка значимости исследуемых показателей для определения степени злокачественности опухоли.

Выявлены статистически значимые различия сывороточных уровней факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии в зависимости от степени злокачественности опухоли ($p < 0,0001$).

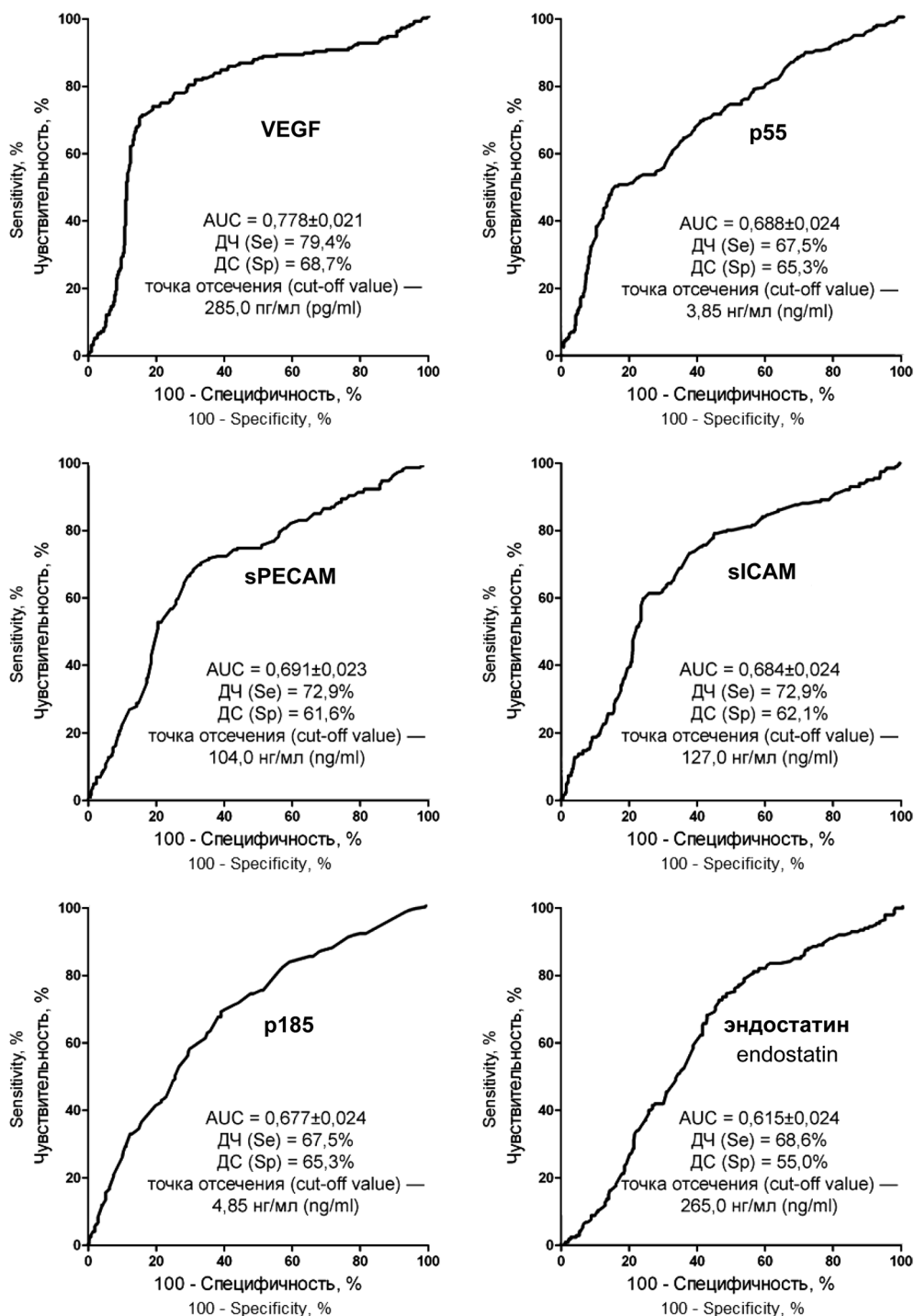


Рис. 2. ROC-кривые лабораторных показателей степени злокачественности опухоли

Fig. 2. ROC curves of the laboratory indices of tumor grade

Медиана содержания VEGF при G2–G3 на 49 % превысила медиану, полученную в группе пациентов с G1. Концентрации фактора некроза опухоли и растворимой формы его рецептора p55 в группе пациентов со средней и высокой степенью злокачественности опухоли на 30,7–45,5 % превысили таковые у лиц с низкой степенью злокачественности. Аналогичные результаты получены при анализе эпидермального фактора роста и его рецептора p185 (23,7–37,8 %). Уровень ингибитора ангиогенеза эндостатина при G2–G3 на 11,3 % ниже уровня, наблюдаемого в группе пациентов с G1.

При проведении непараметрического корреляционного анализа Спирмена выявлено, что со степенью злокачественности опухоли коррелируют следующие показатели: VEGF ($R = 0,56; p < 0,0001$),

p55 ($R = 0,52$; $p < 0,0001$), sPECAM ($R = 0,38$; $p < 0,0001$), sICAM ($R=0,34$ $p < 0,0001$), p185 ($R = 0,33$; $p < 0,0001$), эндостатин ($R = -0,31$; $p < 0,0001$).

Анализ чувствительности и специфичности вышеперечисленных показателей проводили с учетом построения характеристических ROC-кривых и определения площади под кривой AUC. Полученные данные представлены на рис. 2.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что в биологических жидкостях пациентов, страдающих РМП, содержание факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и растворимых форм их рецепторов значимо выше, чем у клинически здоровых лиц. Уровень всех исследованных показателей (кроме эндостатина) значимо возрастает по мере увеличения стадии заболевания. Факторы межклеточной адгезии sICAM, sPECAM, факторы роста VEGF и FGF, растворимые формы рецепторов p55 и p185 являются информативными для дооперационного определения степени инвазии РМП (диагностическая чувствительность – 70,0–88,0 %, диагностическая специфичность – 69,0–87,0 %). Для определения количества опухолевых очагов у пациентов, страдающих немышечно-инвазивным РМП, целесообразно использовать sICAM, FGF, TNF- α , p55, p185, а для прогнозирования степени злокачественности — VEGF, sICAM, sPECAM, p55, p185, эндостатин.

Список использованных источников

1. Folkman, J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications / J. Folkman // *N. Engl. J. Med.* – 1971. – Vol. 285. – P. 1182–1186.
2. Kerbel, R. S. Tumor angiogenesis / R. S. Kerbel // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 358. – P. 2039–2049.
3. Fus, L. P. Role of angiogenesis in urothelial bladder carcinoma / L. P. Fus, B. Górnicka // *Cent. Eur. J. Urol.* – 2016. – Vol. 69, N 3. – P. 258–263.
4. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза / В. П. Чехонин [и др.] // *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* – 2012. – № 2. – С. 23–33.
5. Повещенко, А. Ф. Механизмы и факторы ангиогенеза / А. Ф. Повещенко, В. И. Коненков // *Успехи физиол. наук.* – 2010. – Т. 41, № 2. – С. 68–89.
6. Roles for growth factors in cancer progression / E. Witsch [et al.] // *Physiology (Bethesda).* – 2010. – Vol. 25. – P. 85–101.
7. VEGF-C as a decision-making biomarker for selected patients with invasive bladder cancer who underwent bladder-preserving radical surgery / Z. Li [et al.] // *Arch. Med. Res.* – 2011. – Vol. 42, N 5. – P. 405–411.
8. Correlation of tumor relapse and elevated expression of survivin and vascular endothelial growth factor in superficial bladder transitional cell carcinoma / Y. W. Sun [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2013. – Vol. 12, N 2. – P. 1045–1053.
9. Диагностическое значение исследования фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови / Н. Б. Захарова [и др.] // *Фундам. исслед.* – 2011. – № 11. – С. 215–220.
10. Фактор роста эндотелия сосудов в диагностике метастазов мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря / В. М. Попков [и др.] // *Онкоурология.* – 2016. – Т. 12, № 2. – С. 53–57.
11. Expression of VEGF and its receptors VEGFR1/VEGFR2 is associated with invasiveness of bladder cancer / P. K. Korparapu [et al.] // *Anticancer Res.* – 2013. – Vol. 33, N 6. – P. 2381–2390.
12. Кушлинский, Н. Е. Биологические маркеры опухолей в клинике: достижения, проблемы, перспективы / Н. Е. Кушлинский, Е. С. Герштейн // *Молекуляр. медицина.* – 2008. – № 3. – С. 48–55.
13. Регуляция ангиогенеза при злокачественных новообразованиях почки и мочевого пузыря / Л. В. Спирина [и др.] // *Сибир. онкол. журн.* – 2008. – № 4. – С. 65–69.
14. Epidermal growth factor induces bladder cancer cell proliferation through activation of the androgen receptor / K. Izumi [et al.] // *Int. J. Oncol.* – 2012. – Vol. 41, N 5. – P. 1587–1592.
15. Human epidermal growth factor receptor 2 expression status provides independent prognostic information in patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder / C. Bolenz [et al.] // *BJU Int.* – 2010. – Vol. 106, N 8. – P. 1216–1222.
16. Hynes, N. E. ErbB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors / N. E. Hynes, H. A. Lane // *Nat. Rev. Cancer.* – 2005. – Vol. 5. – P. 341.
17. Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion / A. Appert-Collin [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 106, N 6. – P. 283.
18. Молекулярно-биологические маркеры поверхностного и инвазивного рака мочевого пузыря / Н. Н. Проданец [и др.] // *Совр. технологии в медицине.* – 2009. – № 2. – С. 87–91.
19. PECAM-1 and tumor metastasis / H. M. DeLisser [et al.] // *FASEB J.* – 2007. – Vol. 21. – P. 78.
20. Vascular endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1) regulates advanced metastatic progression / H. DeLisser [et al.] // *PNAS.* – 2010. – Vol. 107. – P. 18616–18621.
21. Mocellin, S. TNF and cancer: the two sides of the coin / S. Mocellin, D. Nitti // *Front Biosci.* – 2008. – Vol. 13. – P. 2774–2783.
22. Wajant, H. The role of TNF in cancer / H. Wajant // *Results Probl. Cell Differ.* – 2009. – Vol. 49. – P. 1–15.

23. Waterston, A. TNF and cancer: good or bad? / A. Waterston, M. Bower // *Cancer Ther.* – 2004. – Vol. 2. – P. 131–148.
24. Эндостатин: современные представления о его роли и механизмах действия (обзор) / А. В. Дигтьяр [и др.] // *Биохимия.* – 2007. – Т. 72, № 3. – С. 291–306.
25. Clinical value of vascular endothelial growth factor and endostatin in urine for diagnosis of bladder cancer / D. Cheng [et al.] // *Tumori.* – 2012. – Vol. 98, N 6. – P. 762–767.

References

1. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *The New England Journal of Medicine*, 1971, vol. 285, pp. 1182–1186.
2. Kerbel R. S. Tumor angiogenesis. *The New England Journal of Medicine*, 2008, vol. 358, pp. 2039–2049.
3. Fus L. P., Górnicka B. Role of angiogenesis in urothelial bladder carcinoma. *Central European Journal of Urology*, 2016, vol. 69, no. 3, pp. 258–263.
4. Chekhonin V. P., Shein S. A., Korchagina A. A., Gurina O. I. The VEGF role in the development of neoplastic angiogenesis. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*, 2012, no. 2, pp. 23–33 (in Russian). doi:10.15690/vramn.v67i2.119.
5. Poveshchenko A. F., Konenkov V. I. Mechanisms and factors of angiogenesis. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk [The Successes of Physiological Sciences]*, 2010, vol. 41, no. 2, pp. 68–89. (in Russian).
6. Witsch E., Sela M., Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology (Bethesda)*, 2010, vol. 25, pp. 85–101.
7. Li Z., Qi F., Qi L., Zhang H., Chen M., Wang L., Zu X. VEGF-C as a decision-making biomarker for selected patients with invasive bladder cancer who underwent bladder-preserving radical surgery. *Archives of Medical Research*, 2011, vol. 42, no. 5, pp. 405–411.
8. Sun Y. W., Xuan Q., Shu Q. A., Wu S. S., Chen H., Xiao J., Xiang P., Zhu Y. P., Wang F. L., Zhao S. T. Correlation of tumor relapse and elevated expression of survivin and vascular endothelial growth factor in superficial bladder transitional cell carcinoma. *Genetics and Molecular Research*, 2013, vol. 12, no. 2, pp. 1045–1053.
9. Zaharova N. B., Durnov D. A., Mikhailov V. Ju., Ponukalin A. N., Nikitina V. V., Zankina O. V., Leonova M. L. Diagnostic value of study of vascular endothelium growth factor in the blood serum. *Fundamental'nye issledovaniia [Fundamental Research]*, 2011, no. 11, pp. 215–220. (in Russian).
10. Popkov V. M., Ponukalin A. N., Zakharova N. B. Vascular endothelial growth factor in diagnostics of metastases of a muscle invasive bladder cancer. *Onkourologiia [Oncourology]*, 2016, vol. 12, no. 1, pp. 53–57. (in Russian).
11. Kopparapu P. K., Boorjian S. A., Robinson B. D., Downes M., Gudas L. J., Mongan N. P., Persson J. L. Expression of VEGF and its receptors VEGFR1/VEGFR2 is associated with invasiveness of bladder cancer. *Anticancer Research*, 2013, vol. 33, no. 6, pp. 2381–2390.
12. Kushlinskij N. E., Gershtejn E. S. Tumor biomarkers of tumors in clinic: achievements, problems, perspectives. *Molekuljarnaja medicina [Molecular Medicine]*, 2008, no. 3, pp. 48–55. (in Russian).
13. Spirina L. V., Kondakova I. V., Usynin E. A., Vintizenko S. I. Angiogenesis regulation in malignant neoplasms of kidney and bladder. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal [Siberian Cancer Journal]*, 2008, no. 4, pp. 65–69. (in Russian).
14. Izumi K., Zheng Y., Li Y., Zaengle J., Miyamoto, H. Epidermal growth factor induces bladder cancer cell proliferation through activation of the androgen receptor. *International Journal of Oncology*, 2012, vol. 41, no. 5, pp. 1587–1592.
15. Bolenz C., Shariat S. F., Karakiewicz P. I., Ashfaq R., Ho R., Sagalowsky A. I., Lotan Y. Human epidermal growth factor receptor 2 expression status provides independent prognostic information in patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder. *BJU International*, 2010, vol. 106, no. 8, pp. 1216–1222.
16. Hynes N. E., Lane H. A. ErbB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nature Reviews Cancer*, 2005, vol. 5, p. 341.
17. Appert-Collin A., Hubert P., Crémel G., Bennisroune A. Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion. *Frontiers in Pharmacology*, 2015, vol. 106, p. 283.
18. Prodanec N. N., Snopova L. B., Bunegina L. V. Molecular-biological markets of surface and invasive bladder cancer. *Sovremennye tehnologii v medicine [Modern Technologies in Medicine]*, 2009, no. 2, pp. 87–91. (in Russian).
19. DeLisser H. M., Cao G., Fehrenbach M., Desprez P., Liu Y., Liggitt D., Thor A., Debs R. PECAM-1 and tumor metastasis, *The FASEB Journal*, 2007, vol. 21, p. 78.
20. DeLisser H. M., Liu Y., Desprez P. Y., Thor A., Briasouli P., Handumrongkul C., Wilfong J., Yount G., Nosrati M., Fong S., Shtivelman E., Fehrenbach M., Cao G., Moore D. H., Nayak S., Liggitt D., Kashani-Sabet M., Debs R. Vascular endothelial platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1) regulates advanced metastatic progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, vol. 107, pp. 18616–18621. doi: 10.1073/pnas.1004654107.
21. Mocellin S., Nitti D. TNF and cancer: the two sides of the coin. *Frontiers in Bioscience: a Journal and Virtual Library*, 2008, vol. 13, pp. 2774–2783.
22. Wajant, H. The role of TNF in cancer. *Results and Problems in Cell Differentiation*, 2009, vol. 49, pp. 1–15.
23. Waterston A., Bower M. TNF and cancer: good or bad? *Cancer Therapy*, 2004, vol. 2, pp. 131–148.
24. Digtjar' A. V., Pozdnjakova N. V., Fel'dman N. B., Lucenko S. V., Severin S. E. Endostatin: current concepts about its biological role and mechanisms of action. *Biokhimiya [Biochemistry]*, 2007, vol. 72, no. 3, pp. 291–306. (in Russian).
25. Cheng D., Liang B., Li Y. Clinical value of vascular endothelial growth factor and endostatin in urine for diagnosis of bladder cancer. *Tumori*, 2012, vol. 98, no. 6, pp. 762–767.

Информация об авторе

Державец Лилия Александровна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: ldzerzhavets@mail.ru.

Для цитирования

Державец, Л. А. Факторы роста, ангиогенеза и межклеточной адгезии для оценки степени распространенности рака мочевого пузыря / Л. А. Державец // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 78–88.

Information about the author

Derzhavets Liliya Aleksandrovna – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. N. N. Alexandrov National Cancer Center (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: ldzerzhavets@mail.ru.

For citation

Derzhavets L. A. Factors of growth, angiogenesis and intercellular adhesion for evaluation of bladder cancer spread. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 78–88.