

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.А. Ким¹, А.А. Субботина¹, Е.С. Герштейн², И.В. Высоцкая¹, В.П. Летягин²

¹ММА им. И.М. Сеченова; ²ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

CHANGES IN VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR EXPRESSION DURING VARIOUS NEOADJUVANT THERAPIES FOR BREAST CANCER

Ye.A. Kim¹, A.A. Subbotina¹, Ye.S. Gershtein², I.V. Vysotskaya¹, V.P. Letyagin²

¹I.M. Sechenov Moscow Medical Academy;

²N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The paper presents the results of treatment in 30 patients with primary breast cancer (BC) ($T_{1-2} N_{0-3} M_0$) treated at the clinics of the N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, in 2005–2006. The histological type of BC was infiltrative ductal carcinoma in 24 (80%) cases, infiltrative lobular carcinoma in 3 (10%), and mixed carcinomas in 3 (10%). There was a highly significant positive correlation between the baseline levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the tumors and serum ($R = 0.90$; $p < 0.0001$), which was also retained after neoadjuvant therapy. The findings suggest that neoadjuvant therapy affects the tumor and serum levels of VEGF in patients with BC; however, the changes in these values are opposite and do not depend on the type of treatment and the degree of therapeutic pathomorphism.

В современной онкологии большое внимание уделяется изучению молекулярных механизмов регуляции роста и развития рака молочной железы (РМЖ). Это связано с поиском новых мишеней для противоопухолевой терапии, а также прогностических факторов, позволяющих использовать адекватный объем лечения уже на ранних стадиях заболевания [1].

Одним из таких факторов является фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor — VEGF) — положительный регулятор ангиогенеза [2, 3], представляющий собой гомодимерный гликолизированный белок, который является специфическим митогеном для эндотелиальных клеток, выступает регулятором проницаемости сосудов, индуцирует экспрессию антиапоптотических белков (Akt и Bcl-2) [4], что является важной составной частью инициации неоангиогенеза.

За последнее время получены результаты целого ряда исследований, убедительно свидетельствующие о некоторых закономерностях экспрессии VEGF при РМЖ. Так, известно, что VEGF является регулятором физиологической и патологической неоваскуляризации. Однако в гистологически не измененных тканях молочной железы и даже в фиброаденомах уровень VEGF достоверно ниже, чем в опухолях [5, 6].

На сегодняшний день не вызывает сомнений неблагоприятное прогностическое значение гиперэкспрессии VEGF при РМЖ. Сразу несколько независимых групп исследователей показали, что высокий уровень VEGF в опухоли коррелирует с низкой общей и безрецидивной

выживаемостью в различных клинических группах. Чаще указывалось на неблагоприятное прогностическое значение VEGF в группах пациентов с ранними стадиями заболевания, без метастазов в лимфатические узлы. Так, в работе G. Gasparini и соавт. [7] наблюдались 260 пациентов в течение 66 мес, при этом высокое содержание VEGF в опухолях достоверно ухудшало как безрецидивную, так и общую выживаемость. В другом исследовании иммуноферментным методом определена концентрация VEGF в опухолях 526 больных РМЖ стадий T1–2N0M0 [8]. Показано, что выживаемость больных с уровнем VEGF ниже медианного значения достоверно выше, чем у пациентов с более высоким уровнем VEGF.

Ряд авторов указывают на значение VEGF как прогностического фактора вероятной резистентности к традиционным видам лекарственного и лучевого лечения. J. Foekens и соавт. [9] определили экспрессию VEGF у 845 больных распространенным РМЖ с возникшим рецидивом заболевания. Первая группа пациентов получала адьювантную гормонотерапию антиэстрогенами, вторая — послеоперационную химиотерапию. В обеих группах повышенное содержание VEGF достоверно свидетельствовало о низкой чувствительности к специфической терапии: у таких пациентов рецидив заболевания возник на первом году наблюдения.

В то же время в большинстве работ не выявлено четкой корреляции экспрессии VEGF с возрастом, менструальным статусом пациенток, гистологическим строением опухоли, степенью

Таблица 1. Степень лечебного патоморфоза (% больных) в группах с различным неoadъювантным лечением

Степень лечебного патоморфоза	1-я группа (химиотерапия)	2-я группа (химиолучевая терапия)	3-я группа (лучевая терапия)
I	20	10	20
II	30	40	30
III	20	20	40
IV	20	30	0
Нет	10	0	10

злокачественности, поражением регионарных лимфатических узлов.

Интересны данные исследований, в которых сравнивали содержание VEGF в опухолевой ткани и сыворотке крови. Показано, что именно тканевая экспрессия VEGF, а не сывороточная, коррелирует с плотностью микрососудов и стадией РМЖ [10]. Таким образом, возможность использования содержания VEGF в крови при оценке активности ангиогенеза в опухоли и прогнозирования исхода заболевания не доказана.

В связи с тенденцией к увеличению частоты выполнения органосохраняющих оперативных вмешательств актуален вопрос о тактике неoadъювантного лечения больных местно-распространенным РМЖ. С этих позиций чрезвычайно интересно оценить влияние предоперационной терапии на содержание VEGF в опухоли и сыворотке крови таких пациентов, сопоставить динамику этих показателей с эффектом проведенного лечения.

Материалы и методы

В настоящее исследование были включены 30 больных первичным РМЖ стадий T2—4N0—3M0, проходивших лечение в клиниках РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН в 2005—2006 гг. Возраст пациенток составил от 24 до 69 лет (средний возраст 48,7 года). В зависимости от стадии РМЖ больные распределялись следующим образом: Ia (T2N0M0) — 3 (10%), Ib (T2N1M0) — 10 (33%), III (T2—4N0—3M0) — 17 (57%).

Всем больным до начала специфического лечения проводилось комплексное обследование, в том числе определение содержания VEGF в сыворотке крови и в цитозоле опухоли, полученной в результате трепанобиопсии. По характеру неoadъювантного лечения больные были разделены на 3 группы по 10 пациенток в каждой. Больные 1-й группы получили 2 курса предоперацион-

ной полихимиотерапии по схеме FAC. Больным 2-й группы проводилась неoadъювантная химиолучевая терапия (химиотерапия по схеме FAC + лучевая терапия РОД 3 Гр, СОД 28—40 изоГр). Пациентки 3-й группы получили только лучевую терапию на область молочной железы и зоны регионарного метастазирования средними фракциями РОД 3 Гр 10—11 фракций до СОД 28—40 Гр по изоэффекту. Через 2,5—3 мес всем больным выполнена радикальная операция — мастэктомия или резекция в зависимости от достигнутого клиничко-рентгенологического эффекта. Динамика экспрессии VEGF оценена в опухоли в результате исследования операционного материала, а также в сыворотке крови больных через 4 нед после хирургического этапа.

Содержание VEGF определяли иммуноферментными методами: в цитозолях опухолей — наборами «Human VEGF ELISA» (BioSource International), в сыворотке крови — наборами «Quantikine® Human VEGF Immunoassay» (R&D systems, США).

Помимо этого, были оценены общепринятые клиничко-морфологические критерии прогноза: гистологический тип опухоли, степень лечебного патоморфоза, количество пораженных лимфатических узлов, рецепторный статус опухоли до и после проведения специфического лечения, экспрессия Her-2/neu.

Рецепторы эстрогенов (РЭ) и прогестерона (РП) в цитозолях опухолей определяли стандар-

Таблица 2. Рецепторный статус в опухолях до и после лечения (n=30)

Статус	До лечения		После лечения	
	абс.	%	абс.	%
РЭ+ РП-	7	23,3	9	30
РЭ- РП+	2	6,7	2	6,7
РЭ+ РП+	7	23,3	8	26,7
РЭ- РП-	14	46,7	11	36,7

Примечание. Данные представлены как число больных.

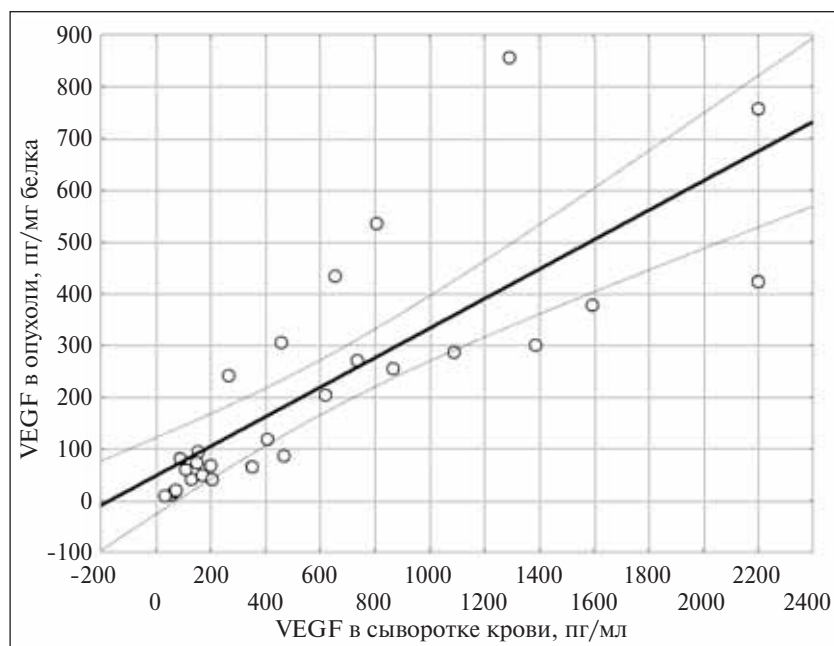


Рис. 1. Взаимосвязь уровней VEGF в сыворотке крови и опухоли до лечения

тизованным конкурентным радиолигандным методом с использованием разделения на активированном угле, покрытом декстраном. Опухоли считали положительными по соответствующему виду рецепторов при их концентрации не менее 10 фмоль/мг белка.

Экспрессия белка Her-2/neu в парафиновых срезах опухолей всех больных РМЖ оценена полуколичественным иммуногистохимиче-

ским методом с использованием наборов HercepTest® (Dako Corp).

При сравнении и анализе взаимосвязи показателей использовали t -критерий Стьюдента, непараметрические критерии Вилкоксона для парных сравнений и Манна — Уитни, тесты корреляции рангов Спирмена (R). Статистическая обработка данных проведена с помощью программного пакета Statistica 6.0 (StatSoft Inc).

Результаты

В 24 (80%) наблюдениях гистологическим вариантом РМЖ являлся инфильтративный протоковый рак, в 3 (10%) — инфильтративный дольковый рак, еще в 3 (10%) — смешанные раки.

После проведения неоадьювантного лечения радикальную резекцию удалось выполнить 13 (43,3%) больным местно-распространенным РМЖ, радикальную мастэктомию с сохранением грудных мышц — 17 (56,7%).

По данным гистологического исследования, в операционном материале чаще всего обнаруживались признаки лечебного патоморфоза II степени — 10 (33,3%) клинических случаев, у 8 (26,7%) больных выявлен патоморфоз III степе-

ни, в 2 (6,7%) наблюдениях признаки лечебного патоморфоза отсутствовали. Анализ частоты лечебного патоморфоза по группам больных представлен в табл. 1.

Статус рецепторов стероидных гормонов в опухолях после проведенного лечения достоверно не изменился (табл. 2).

При оценке статуса Her-2/neu у 5 больных выявлена гиперэкспрессия белка данного гена (3+), у 3 пациенток — промежуточная реакция (2+/3+). В остальных случаях опухоли оказались Her-2/neu-отрицательными.

VEGF обнаружен во всех исследованных образцах опухолей и сыворотки крови. До начала специфического лечения у первичных больных уровень VEGF в опухоли соста-

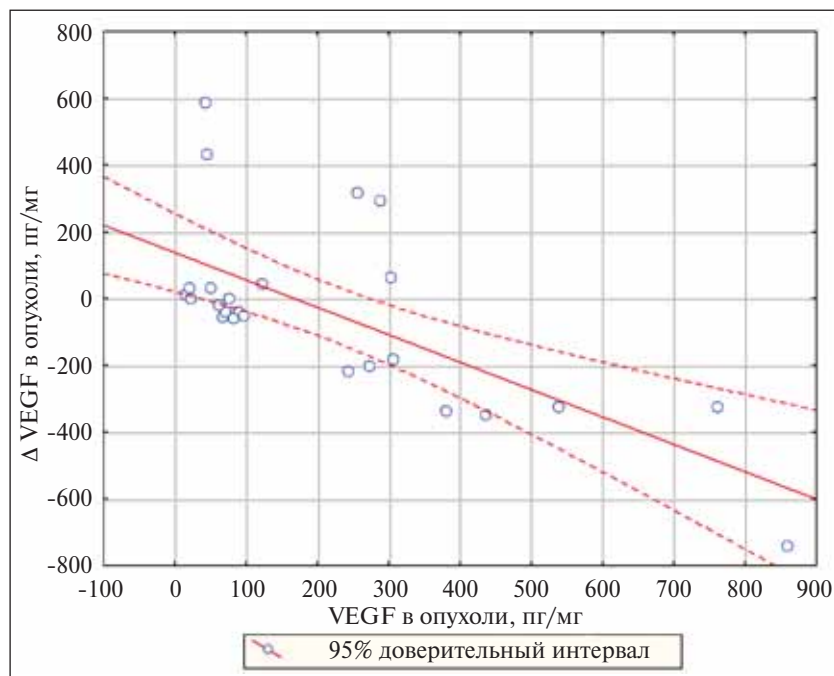


Рис. 2. Изменение содержания VEGF в опухоли в зависимости от его исходного уровня



влял 10,6—858 пг/мг (медиана 107 пг/мг), в крови — 32—544 пг/мл (медиана 149 пг/мл). Обнаружена высокодостоверная положительная корреляция между исходными уровнями VEGF в опухолях и сыворотке крови ($R = 0,90$; $p < 0,0001$; рис. 1), которая сохранялась и после проведения неоадьювантной терапии ($R = 0,94$; $p < 0,0001$).

Исследованные показатели VEGF не зависели от возраста, менструального статуса больных, гистологического строения опухоли, стадии заболевания, количества пораженных лимфатических узлов. Уровень VEGF в опухолях и сыворотке крови не коррелировал с РЭ-статусом опухолей, однако наблюдалась достоверная положительная корреляция содержания VEGF в опухолях с их РП-статусом ($R = 0,43$; $p < 0,05$).

После проведения неоадьювантного лечения уровень VEGF уменьшился на 7—89% в опухолях 16 больных ($p < 0,01$). У остальных больных содержание тканевого VEGF, наоборот, увеличилось, однако эти изменения не были достоверны.

Абсолютное (рис. 2) и относительное (%) снижение уровня VEGF в опухоли достоверно положительно коррелировало с исходным показателем ($R = 0,76$; $p < 0,001$ и $R = 0,60$; $p < 0,001$), т.е. чем выше был уровень VEGF до начала лечения, тем в большей степени он снижался после проведенной терапии.

Чаше снижение концентраций VEGF отмечалось в образцах опухолей больных с поздними стадиями РМЖ (на 28—345 пг/мг). Подобная тенденция обнаружена при исследовании зависимости тканевого VEGF от статуса Her-2/neu: из пяти пациентов, в опухолях которых выявлена гиперэкспрессия Her-2/neu (3+), у четырех тканевый VEGF уменьшился после предоперационной терапии (на 42—85%) и только в одном наблюдении увеличился. Во всех трех случаях промежуточного значения Her-2/neu (2+/3+) уровень VEGF в опухоли после проведения специфического лечения также снизился по сравнению с первоначальным,

однако эти изменения не были статистически значимыми.

В группе пациентов, получавших химиотерапию, в 70% случаев уровень VEGF увеличился на 21,9—1032,1% (медиана 48%), тогда как в группе больных, перенесших химиолучевое лечение, у 80% пациентов уровень VEGF снизился на 6,6—88,7% (медиана 59%). В 3-й группе после проведения неоадьювантной лучевой терапии VEGF в опухоли уменьшился лишь в 50% наблюдений (на 28—78%, медиана 53%; рис. 3)

В целом направление и степень выраженности изменений внутриопухолевой концентрации VEGF не зависели от вида и эффективности предоперационного лечения, степени лечебного патоморфоза.

В отличие от снижения показателя VEGF в опухоли концентрация VEGF в сыворотке крови после неоадьювантной терапии и операции уве-

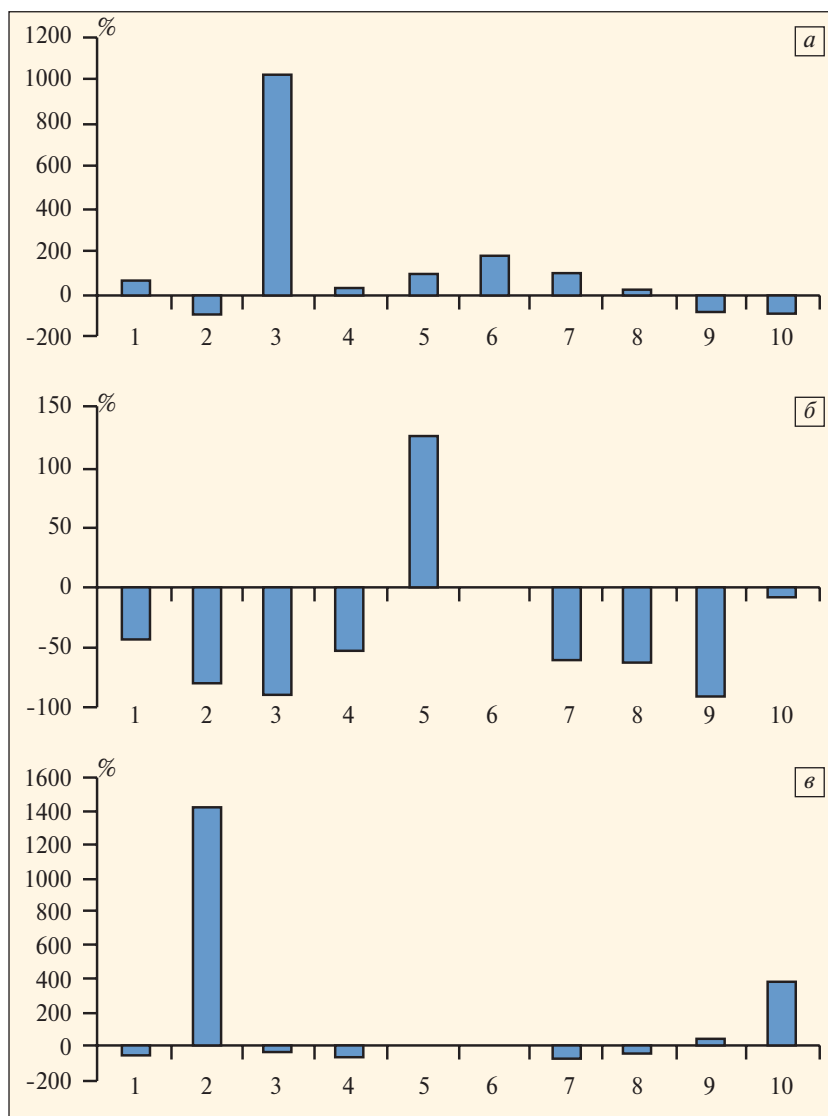


Рис. 3. Изменение уровня VEGF (индивидуальные значения) в опухолях больных, получавших химиотерапию (а), химиолучевое лечение (б) и лучевую терапию (в)

личилась на 9—466% (медиана 108%) по сравнению с исходным уровнем у 80% больных ($p < 0,01$), направление и степень выраженности этих изменений также не зависели от вида и эффективности предоперационного лечения и не были связаны с изменением содержания VEGF в опухоли.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что неоадьювантное лечение влияет на уровень VEGF как в опухоли, так и в сыворотке крови больных РМЖ, однако динамика этих показателей противоположна и не зависит от вида проводимого лечения и степени лечебного патоморфоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Биологические маркеры рака молочной железы: методологические аспекты и клинические рекомендации. Маммология 2005;(1):65—70.
2. Ferrara N. The role of vascular endothelial growth factor in pathological angiogenesis. Breast Cancer Res Treat 1995;36(2):127—37.
3. Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С. Роль фактора роста эндотелия сосудов при раке молочной железы. Бюл эксп-биол 2002;133(6):604—12.
4. Щербаков А.М., Герштейн Е.С., Анурова О.А., Кушлинский Н.Е. Фактор роста эндотелия сосудов и его рецепторы первого и второго типа при раке молочной железы. Вестн онкол 2005;51(3):317—21.
5. Герштейн Е.С., Щербаков А.М., Алиева С.К. и др. Фактор роста эндотелия сосудов в опухолях и сыворотке крови больных раком молочной железы: связь с клинико-морфологическими факторами. Вестн РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2005;(1—2):26—30.
6. Герштейн Е.С., Щербаков А.М., Алиева С.К. и др. Фактор роста эндотелия сосудов в опухолях и сыворотке крови больных раком молочной железы. Бюл эксп-биол 2003;135(1):99—102.
7. Gasparini G. Prognostic value of vascular endothelial growth factor in breast cancer. Oncologist 2000;5(Suppl 1):37—44.
8. Linderholm B., Grankvist K., Tavelin B., Henriksson R. Vascular endothelial growth is high prognostic value in node-negative breast carcinoma. J Clin Oncol 1998;16(9):3121—8.
9. Foekens J.A., Peters H.A. et al. High tumor levels of vascular endothelial growth factor predict poor response to systemic therapy in advanced breast cancer. Cancer Res 2002;61(14):5407—14.
10. Gallaghy G., Dimitriadis E., Harmey J. et al. Immunohistochemical measurement of tumor vascular endothelial growth factor in breast cancer. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2000;8(2):104—9.

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Вы можете заказать в Издательском доме «АБВ-пресс» следующие книги:

Извещение	ООО «АБВ-пресс» получатель платежа Расчетный счет 40702810200001012010 в ОАО КБ «Мастер-банк», Москва наименование банка Корреспондентский счет 30101810800000000337 ИНН 7729502234 КПП 772901001 БИК 044585337 Код ОКПО 71989960 Индекс Адрес		
	Ф.И.О. Вид платежа Дата Сумма Указать название книги _____ _____ _____		
Кассир	Подпись плательщика _____		
Квитанция	ООО «АБВ-пресс» получатель платежа Расчетный счет 40702810200001012010 в ОАО КБ «Мастер-банк», Москва наименование банка Корреспондентский счет 30101810800000000337 ИНН 7729502234 КПП 772901001 БИК 044585337 Код ОКПО 71989960 Индекс Адрес		
	Ф.И.О. Вид платежа Дата Сумма Указать название книги _____ _____ _____		
Кассир	Подпись плательщика _____		

★ **атлас «РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ»**
 под редакцией **акад. РАН и РАМН**
М.И. Давыдова
 и **проф. В.П. Летагина**
 (1000 руб. + 100 руб. пересылка);

★ **«СЕМИНАР ПО КЛИНИЧЕСКОЙ МАММОЛОГИИ»**
 под редакцией **акад. РАН и РАМН**
М.И. Давыдова
 и **проф. В.П. Летагина**
 (170 руб. + 50 руб. пересылка);

Как оформить заказ на книгу:

заполните квитанцию;
 перечислите деньги на указанный расчетный счет по приложенной квитанции либо используйте ее как образец;
 отправьте заполненную квитанцию об оплате по адресу:
 109 443 а/я 35, ООО «АБВ-пресс».
 Тел./факс: (495) 252 96 19
 E-mail: abv@abvpress.ru
 Сайт: www.netoncology.ru
 www.abvgrp.ru