

© И.А.Корнеев, О.Д.Ягмуров, А.С.Аль-Шукри, Е.С.Завьялова, 2008
УДК 616.62-006.6-036.8:612.181

И.А. Корнеев¹, О.Д. Ягмуров², А.С. Аль-Шукри¹, Е.С. Завьялова¹

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ АНГИОГЕНЕЗА ОПУХОЛИ В ТЕЧЕНИИ ПЕРЕХОДНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

I.A. Korneev, O.D. Yagmurov, A.S. Al-Shukri, E.S. Zavialova

THE PROGNOSTIC ROLE OF TUMOR ANGIOGENESIS IN THE COURSE OF TRANSITIONAL CELL CANCER OF URINARY BLADDER

Кафедры ¹ урологии и ² патологической анатомии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: изучить особенности ангиогенеза переходно-клеточных опухолей мочевого пузыря и сопоставить их с клиническими данными, степенью дифференцировки и глубиной инвазии опухоли. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Ретроспективно изучены материалы клинического обследования 16 больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря. Сосуды образцов опухолевой ткани были окрашены иммуногистохимическим методом с использованием антител к CD34. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Глубина инвазии рака Tis, Ta, T1, T2, T3, T4 и TX была выявлена в 1 (6%), 2 (13%), 1 (6%), 6 (36%), 2 (13%), 2 (13%), 2 (13%) случаях соответственно, а степень дифференцировки G1, G2 и G3 – в 6 (36%), 6 (36%) и 4 (28%) случаях соответственно. С понижением степени дифференцировки переходно-клеточных карцином число микрососудов в опухолевой ткани возрастало ($r=0,68$; $p=0,04$; $rs=0,56$; $p=0,023$; $N=6,55$; $p=0,038$; $F=9,41$; $p=0,003$). Опухоли с умеренной и низкой степенью дифференцировки достоверно различались по плотности микрососудов ($t=2,94$; $p=0,019$). Сравнительное изучение опухолевой ткани со степенями дифференцировки G1 и G3 показало, что они отличались по числу микрососудов в поле зрения в наибольшей степени ($t=4,34$; $p=0,002$; $U=0,00$; $p=0,011$). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Проведенное исследование дает основание считать, что определение ангиогенной активности карцином мочевого пузыря может быть полезным для прогноза течения заболевания. Определение интенсивности кровоснабжения опухоли позволило нам сделать вывод о том, что оно тесно связано со степенью дифференцировки переходно-клеточных карцином и может быть рекомендовано в качестве клиничко-морфологического критерия, дополняющего существующую классификацию переходно-клеточного рака мочевого пузыря.

Ключевые слова: переходно-клеточный рак мочевого пузыря, ангиогенез, прогноз.

ABSTRACT

THE AIM of the study to investigate the special features of angiogenesis of transitional cell cancer of urinary bladder and correlate them with clinical data, degree of differentiation and deep invasion of the tumor. **PATIENTS AND METHODS.** The retrospective analysis of clinically investigated 16 patients with transitional-cellular tumor of urinary bladder was conducted. The vessels of the tumor tissues were colored by means of immunohistochemical method with the use of CD34 antibodies. **RESULTS.** The depth of the invasion of the tumor Tis, Ta, T1, T2, T3, T4 and TX was detected in 1 (6%), 2 (13%), 1 (6%), 2 (13%), 2 (13%), 2 (13%) cases accordingly, and the stage of the differentiation G1, G2 and G3 – in 6 (36%), 6 (36%) and 4 (28%) cases accordingly. With the lower stage of the differentiation of transitional cell carcinoma the amount of micro-vessels in the tumor tissues increased ($r=0,68$; $p=0,04$; $rs=0,56$; $p=0,023$; $N=6,55$; $p=0,038$; $F=9,41$; $p=0,003$). Tumors with moderate and low stage of the differentiation were reliably different by the density of micro-vessels ($t=2,94$; $p=0,019$). The comparative study of tumor tissue with the stages of differentiation G1 and G2 showed that they differ in the number of micro-vessels in the observation field in the greatest extent ($t=4,34$; $p=0,02$; $U=0,00$; $p=0,011$). **CONCLUSION.** The conducted investigation allows to make the conclusion that the determination of the angiogenic activity of carcinoma of the urinary bladder can be a valuable factor for prognosis of the disease course. The determination of the intensity of the blood flow of the tumor allows us to suppose that it is closely connected with the differentiation stage of the transitional cell carcinoma and could be recommended as a clinico-morphological criteria, supplementing the current classification of the transitional-cellular tumor of urinary bladder.

Key words: transitional-cellular tumor of urinary bladder, angiogenesis, prognosis.

ВВЕДЕНИЕ

Рак мочевого пузыря относится к наиболее частым злокачественным новообразованиям и составляет 2-5% от всех злокачественных новообразований человека. В структуре онкологической заболеваемости он занимает 11-е место и дости-

гает 10-15 случаев на 100 000 человек в год [1]. Выбор метода лечения больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря в настоящее время базируется на традиционных прогностических факторах: глубине инвазии и степени дифференцировки. Очевидно и то, что эти признаки не могут полноценно предсказать дальнейшее течение болезни. В настоящее время исследователями ведется

Завьялова Е.С. 197089, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого д.17, тел. 8-921-759-24-04, e-mail: dr.zavialova@mail.ru

поиск клинико-морфологического критерия, который позволил бы получить дополнительную прогностическую информацию и точнее спрогнозировать биологическое поведение карцином. Несмотря на эти усилия, до сих пор вопрос остается открытым.

Прогноз течения заболевания зависит от опухолевой прогрессии и вероятности появления метастазов. Эти характеристики тесно связаны с ангиогенезом опухоли, который необходим для ее дальнейшего роста и развития. Исследователями установлено, что одним из ключевых этапов инвазии и метастазирования злокачественных образований является активация ангиогенеза опухоли. Она обусловлена гипоксией опухолевой ткани, вследствие которой начинается продукция ангиогенных факторов: эндотелиального фактора роста сосудов, фактора роста фибробластов и других. Образование новых сосудов включает дегенерацию базальной мембраны сосудов, активацию эндотелиоцитов, их миграцию за пределы сосуда с последующей пролиферацией на месте [2].

Количественным отражением интенсивности ангиогенеза является плотность микрососудов опухоли, которые подсчитывают после окраски сосудов иммуногистохимическими методами, используя антитела к фактору VIII, CD34 или CD31. Было установлено, что повышенная плотность сосудов характерна для более агрессивных опухолей с худшим прогнозом [3]. Прогностическая ценность изучения плотности микрососудов была показана при исследовании рака желудка, молочной железы и предстательной железы [4–6]. Большинство авторов, исследовавших кровоснабжение переходноклеточных карцином, пришли к выводу, что пациенты с высокой плотностью микрососудов имеют достоверно больший риск рецидивирования опухоли и меньшую продолжительность жизни по сравнению с теми, у кого этот показатель меньше [7]. Опубликованы данные, согласно которым плотность микрососудов является независимым прогностическим фактором прогрессии заболевания для инвазивных опухолей, а также ее взаимосвязь с наличием скрытых метастазов в лимфатических узлах [8,9]. Однако в литературе существуют разногласия относительно прогностической ценности ангиогенеза опухолей. Так, некоторые авторы не выявили взаимосвязи между плотностью микрососудов и прогнозом карцином мочевого пузыря [10]. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение роли ангиогенеза переходноклеточных опухолей мочевого пузыря и сопоставление их с клиническими данными, степенью дифференцировки и глубиной инвазии.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективно изучены материалы клинического обследования 16 больных переходноклеточным раком мочевого пузыря, проходивших лечение в урологических клиниках СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова и ВМА им. С.М. Кирова и находившихся на диспансерном наблюдении. 10 (62%) пациентам была произведена трансуретральная резекция, 3 (19%) выполнена радикальная цистэктомия, у 3 (19%) больных опухоль мочевого пузыря была неоперабельной. Соотношение мужчин и женщин было 15:1, средний возраст пациентов составил 66 ± 9 лет. Минимальный размер опухоли был 1 см, максимальный – 8 см, средние размеры составили $2,8 \pm 2,6$ см. У половины больных карциномы были одиночные, другая половина имела множественные опухоли. У 3 (19%) пациентов оперативные вмешательства были выполнены по поводу рецидивных карцином, у 13 (81%) опухоли были первичными.

Из материала, взятого во время операции, приготавливались гистологические срезы толщиной 5 – 7 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином. Затем проводилось при увеличении $\times 600$ обзорное гистологическое исследование изучаемых структур с выявлением глубины инвазии и степени дифференцировки рака. Иммуногистохимические реакции проводились с антителами к CD34 фирмы «Дакко», Дания.

Полученные данные обзорного гистологического и иммуногистохимического исследования сопоставлялись с результатами диспансерного наблюдения за пациентами в течение 5 лет. Средний срок наблюдения составил 51 ± 32 месяца. За время наблюдения рецидивы были выявлены у 7 (44%) больных, средний срок безрецидивного промежутка составил 7 ± 6 месяцев, 7 (44%) пациентов умерли вследствие опухолевой прогрессии и рецидивирования.

При статистической обработке результатов учитывались параметры распределения. Анализировались корреляционные связи между признаками с использованием коэффициента корреляции Пирсона, непараметрического rs-теста, Н-критерия Краскала-Уоллеса и однофакторного дисперсионного анализа, а сравнение средних величин – с помощью t-критерия Стьюдента и непараметрического U-теста Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При обзорном гистологическом исследовании препаратов было выявлено, что глубина инвазии рака Tis, Ta, T1, T2, T3, T4 и TX была выявлена в 1 (6%), 2 (13%), 1 (6%), 6 (36%), 2 (13%), 2 (13%), 2

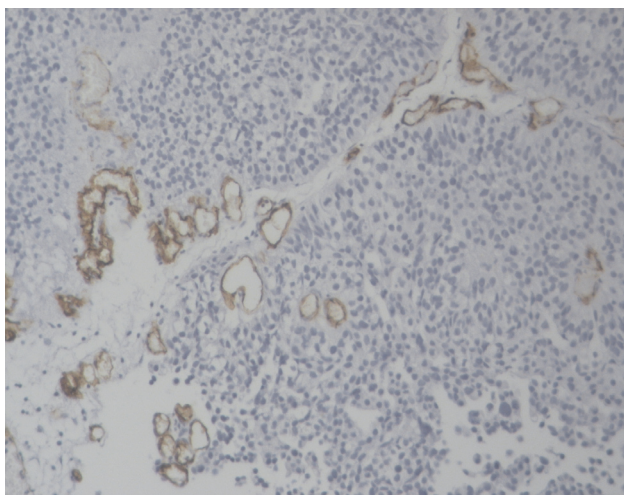


Рис. 1. Переходно-клеточный рак мочевого пузыря, контрастированы микрососуды. Микрофотография. Окраска гематоксилин-эозин и иммуногистохимическая окраска к фактору CD34 эндотелия, увеличение $\times 400$.

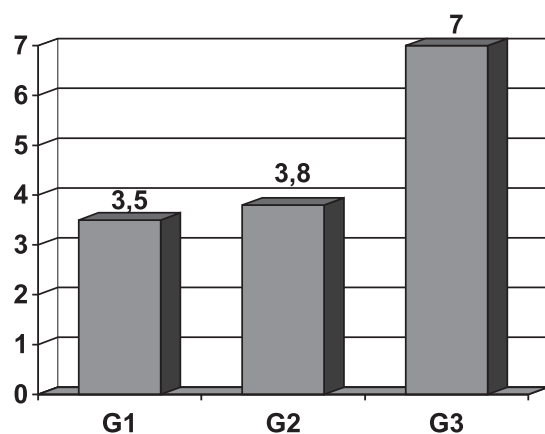


Рис. 2. Зависимость плотности микрососудов от степени дифференцировки опухолевой ткани.

(13%) случаях соответственно, а степень дифференцировки G1, G2 и G3 – в 6 (36%), 6 (36%) и 4 (28%) соответственно.

В результате исследования было установлено, что образцы опухолевой ткани отличались друг от друга по плотности микрососудов. При анализе распределения было выявлено, что для плотности микрососудов были характерны правосторонняя асимметрия и островершинное распределение. Такое распределение этого признака свидетельствует о том, что с одной стороны вариабельность этого признака была относительно небольшой, а с другой – что на фоне средних значений были высоко васкуляризированные карциномы с высокой плотностью сосудистой сети.

Не было выявлено корреляционных взаимосвязей между клиническими данными пациентов, наличием и быстротой рецидива, выживаемостью больных и плотностью микрососудов опухолей. Однако наблюдалась тенденция в значениях корреляции между числом микрососудов в поле зре-

ния и локализацией опухоли на правой стенке ($r=0,52$; $p=0,069$).

Полученные данные были сопоставлены с классификационными категориями – глубиной инвазии и степенью дифференцировки опухолей. Обнаружена зависимость числа микрососудов в поле зрения от степени дифференцировки опухолевой ткани. С ее понижением число микрососудов в поле зрения возрастало ($r=0,68$; $p=0,04$; $rs=0,56$; $p=0,023$; $N=6,55$; $p=0,038$; $F=9,41$; $p=0,003$).

Анализировались различия между подгруппами пациентов с разными степенями дифференцировки переходно-клеточных карцином. При этом различий в васкуляризации между карциномами со степенями дифференцировки G1 и G2 не обнаружено. Образцы опухоли с умеренной и низкой степенью дифференцировки достоверно различались по плотности микрососудов ($t=2,94$; $p=0,019$). Сравнительное изучение опухолевой ткани со степенями дифференцировки G1 и G3 показало, что они отличались по числу микрососудов в поле зрения в наибольшей степени ($t=4,34$; $p=0,002$; $U=0,00$; $p=0,011$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Концепция зависимости опухолевого роста и метастазирования от кровоснабжения опухоли была впервые сформулирована J. Folkman в 1971 г. [11]. С тех пор ангиогенез опухолей изучался многими авторами применительно к различным локализациям рака, в том числе и переходно-клеточного рака мочевого пузыря. Установлено, что кровоснабжение необходимо для перехода от преинвазивной карциномы (карцинома in situ) к инвазивной стадии рака, а также, что кровоснабжение опухоли является одним из ключевых факторов дальнейшего прогрессирования карцином, от которого зависит доставка кислорода, питательных веществ и возможность метастазирования опухоли.

По мнению большинства исследователей, плотность микрососудов опухоли является надежным прогностическим фактором выживаемости пациентов с раком мочевого пузыря. В нашем исследовании не было выявлено взаимосвязи интенсивности кровоснабжения с прогнозом течения заболевания пациентов. Однако установлено, что ангиогенез тесно связан со степенью злокачественности опухоли: с понижением степени дифференцировки плотность микрососудов опухолевой ткани возрастала. Также были доказаны различия между подгруппами по степени дифференцировки карцином.

Одним из наиболее дискуссионных вопросов, касающихся рака мочевого пузыря, остается про-

блема гистологического стадирования переходноклеточных опухолей мочевого пузыря. За последние 10 лет Европейская ассоциация урологов трижды меняла свои рекомендации по определению принадлежности карцином к той или иной гистологической группе. В настоящий момент принято деление переходноклеточных опухолей мочевого пузыря на папиллярные новообразования с низким злокачественным потенциалом, высокодифференцированные и низкодифференцированные папиллярные карциномы уротелия. Тем не менее, единого мнения относительно настоящей классификации у урологов нет. Учитывая тесную взаимосвязь степени дифференцировки и плотности микрососудов опухолевой ткани, этот показатель мог бы стать одним из критериев, которые позволили бы точнее определить гистологическую градацию новообразований, что было показано в нашем исследовании. Для более убедительных результатов необходимо проведение более обширных исследований. Возможными причинами расхождения публикаций относительно прогностической ценности ангиогенеза являются использование различных реактивов, отсутствие единых стандартов при оценке результатов, а также субъективность оценки результатов исследования. Эти недостатки можно преодолеть, стандартизовав методику оценки и применяя компьютерные методы визуализации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование дает основание считать, что определение ангиогенной активности карцином мочевого пузыря может быть полезным для прогноза течения заболевания. Определение интенсивности кровоснабжения опухоли позволило нам сделать вывод о том, что оно тесно связано со степенью дифференцировки переходноклеточных карцином и может быть рекомендовано в качестве клинко-морфологического критерия, дополняющего существую-

щую классификацию переходноклеточного рака мочевого пузыря.

Благодарность. Авторы выражают глубокую благодарность В. В. Козлову за помощь в статистической обработке результатов исследования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of major cancers in 1985. *Int J Cancer* 1993; 54:594-606
2. Bergers G, Brekken R, McMahon G et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol* 2000; 2:737-744
3. Canoglu A, Gogus C, Beduk Y, Orhan D, Tulunay O, Baltaci S. Microvessel density as a prognostic marker in bladder carcinoma: correlation with tumor grade, stage and prognosis. *Int Urol Nephrol* 2004;36(3):401-405
4. Lazar D, Taban S, Raica M, Sporea I, Cornianu M, Goldis A, Vernic C. Immunohistochemical evaluation of the tumor neoangiogenesis as a prognostic factor for gastric cancer. *Rom J Morphol Embryol* 2008;49(2):137-148
5. Bolat F, Kayaselcuk F, Nursal TZ, Yagmurdu MC, Bal N, Demirhan B. Microvessel density, VEGF expression, and tumor-associated macrophages in breast tumors: correlations with prognostic parameters. *J Exp Clin Cancer Res* 2006;25(3):365-372
6. Brawer MK, Deering RE, Brown M, Preston SD, Bigler SA. Predictors of pathologic stage in prostatic carcinoma. The role of neovascularity. *Cancer* 1994;73:678
7. Bochner BH, Cote RJ, Weidner N, Groshen S, Chen SC, Skinner DG, Nichols PW. Angiogenesis in bladder cancer: relationship between microvessel density and tumor prognosis. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(21):1603-1612
8. Dickinson AJ, Fox SB, Persad RA. Quantification of angiogenesis as an independent predictor of prognosis in invasive bladder carcinomas. *Br J Urol* 1994;74:762-766
9. Jaeger TM, Weidner N, Chew K, Moore DH, Kerschmann RL, Waldman FM, Carroll PR. Tumor angiogenesis correlates with lymph node metastases in invasive bladder cancer. *J Urol* 1995;154(1):69-71
10. Dinney CP, Babkowski RC, Antelo M et al. Relationship among cystectomy, microvessel density and prognosis in stage T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 1998; 160(4):1285-1290
11. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-1186

Поступила в редакцию 4.09.2008 г.

Принята в печать 22.10.2008 г.