

DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-76-81
УДК: 616.345-006.6-079.8

Для цитирования: Волков С.В., Лобанов С.Л., Терешков П.П. Значение факторов роста в дополнительной диагностике рака толстой кишки. Сибирский онкологический журнал. 2021; 20(3): 76–81. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-76-81
For citation: Volkov S.V., Lobanov S.L., Tereshkov P.P. The importance of growth factors in the diagnosis of colon cancer. Siberian Journal of Oncology. 2021; 20(3): 76–81. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-76-81

ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ РОСТА В ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

С.В. Волков, С.Л. Лобанов, П.П. Терешков

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Россия
Россия, 672090, г. Чита, ул. Горького, 39а. E-mail: vsv_19@mail.ru

Аннотация

Цель исследования – определить уровень факторов роста в сыворотке крови больных раком левой половины толстой кишки и оценить возможность использования этих данных в диагностике опухолевого процесса. **Материал и методы.** В основную группу вошло 63 пациента в возрасте от 20 до 75 лет, оперированных по поводу рака (аденокарциномы) левой половины ободочной кишки (нисходящий, сигмовидный, ректосигмоидный отделы) I (T1–2N0M0), II (T3–4aN0M0) и III (T1–2N1M0) стадии. У 5 пациентов был выявлен метастаз в одном регионарном лимфоузле. Остальные пациенты были без регионарного метастазирования. У всех пациентов до госпитализации опухоль была подтверждена посредством колоноскопии с последующим гистологическим исследованием. Группу клинического сравнения в количестве 25 человек составили пациенты с хроническим геморроем вне обострения, которым проводилась колоноскопия. Забор крови у пациентов основной группы осуществлялся в день операции до ее начала. У пациентов группы клинического сравнения кровь брали после исключения рака толстой кишки (после колоноскопии). Исследование крови осуществлялось с помощью тест-системы (BioLegend): мультиплексный набор для определения факторов роста (Angiopoietin-2, (Ang-2), EGF, EPO, FGF-basic, G-CSF, GM-CSF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, SCF, TGF- α , VEGF). **Результаты.** В среднем у онкологических пациентов уровень таких сравниваемых веществ, как EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, был выше, чем в контрольной группе, в несколько раз, что является статистически значимым ($p < 0,05$). Особенно ярко выраженная разница (более чем в 10 раз) установлена по уровню PDGF-AA. Кроме общих количественных изменений, установлена статистически значимая зависимость уровня исследуемых веществ: VEGF – с полом; Angioprotein-2, G-CSF, EPO, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, VEGF – с возрастом пациента; TGF- α , HGF – со степенью дифференцировки опухоли. **Заключение.** Установлено, что изменения уровня биологически активных веществ, возникающие при раке толстой кишки, могут служить дополнительным диагностическим маркером при выявлении злокачественной опухоли.

Ключевые слова: рак толстой кишки, степень дифференцировки, факторы роста, диагностические маркеры, тест-системы, исследование крови.

THE IMPORTANCE OF GROWTH FACTORS IN THE DIAGNOSIS OF COLON CANCER

S.V. Volkov, S.L. Lobanov, P.P. Tereshkov

Chita State Medical Academy, Chita, Russia
39a, Gorkogo Street, 672090, Chita, Russia. E-mail: vsv_19@mail.ru

Abstract

Objective: to determine the level of growth factors in the blood serum of patients with left-sided colon cancer and to assess the feasibility of using these findings in the tumor detection. **Material and Methods.** The study group included 63 patients aged 20 to 75 years who underwent surgery for left-sided colon adenocarcinoma (descending, sigmoid, rectosigmoid) with stage I (T1–2N0M0), II (T3–4aN0M0), and III (T1–2N1M0). Only 5 patients developed metastases in one regional lymph node. The remaining patients had no regional metastases. In all patients, before hospitalization, the tumor was confirmed by colonoscopy followed by histological examination. The group of comparison consisted of 25 patients with chronic hemorrhoids without exacerbation, who underwent colonoscopy. In patients of the study group, blood tests were drawn on the day of surgery before its starting. In patients of the comparison group, blood was taken after excluding colon cancer (after colonoscopy). Blood tests were carried out using a test system (BioLegend): multiplex set for determining growth factors (Angiopoietin-2, (Ang-2), EGF, EPO, FGF-basic, G-CSF, GM-CSF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, SCF, TGF- α , VEGF). **Results.** In cancer patients, the levels of EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, and PDGF-BB were several times higher than in the control group ($p < 0.05$). The level of PDGF-AA was 10 times higher in cancer patients than in controls. In addition to quantitative changes, statistically significant differences were observed between the VEGF level and sex of the patients; Angio protein-2, G-CSF, EPO, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, VEGF levels and the age of the patients; TGF- α , HGF levels and the histological grade of the tumor. **Conclusion.** It was found that changes in the level of biologically active substances that occur in colon cancer can serve as additional diagnostic markers for cancer detection.

Key words: colon cancer, differentiation grade, growth factors, diagnostic markers, test systems, blood tests.

Введение

Рак толстой кишки (РТК) занимает третье место в структуре онкологической заболеваемости как у мужчин, так и у женщин [1]. Диагностика РТК представляет значительные трудности, так как клинически опухоль проявляет себя на поздних стадиях. В связи с этим более 70 % пациентов обращаются на III–IV стадии болезни. Известно, что РТК отличается по своей клинической агрессивности, часто имеют неблагоприятное течение и неудовлетворительные отдаленные результаты.

Учитывая указанные проблемы, поиск новых методов диагностики для наиболее раннего выявления рака толстой кишки и мониторинга состояния пациента является актуальным. При анализе немногочисленных, нередко противоречивых исследований, посвященных изучению динамики ряда биологически активных веществ, данное направление представляется достаточно перспективным. В ряде исследований установлено, что уровень некоторых факторов роста (EGF, HGF, TGF- β , VEGF, PDGF, IP-10, FGF-2, G-CSF, GM-CSF, TNF α и VEGF-A) [2–5] значительно отличается при РТК относительно контрольной группы. Указанные наблюдения могут свидетельствовать о перспективности этих показателей в качестве вероятных маркеров опухолевого процесса.

Цель исследования – определить уровень факторов роста в сыворотке крови больных раком левой половины толстой кишки и оценить возможность использования этих данных в диагностике опухолевого процесса.

Материал и методы

В основной группе было 63 пациента, оперированных в ГУЗ «Забайкальский краевой онкологиче-

ский диспансер» по поводу рака (аденокарциномы) левой половины ободочной кишки (нисходящий, сигмовидный, ректосигмоидный отделы) I (T1–2N0M0), II (T3–4aN0M0) и III (T1–2N1M0) стадии. Среди них 32 мужчины и 31 женщина в возрасте от 20 до 75 лет, средний возраст – $57,7 \pm 3,8$ года. Пациенты не получали какого-либо лечения в предоперационном периоде, во всех случаях до госпитализации опухоль была подтверждена при колоноскопии с последующим гистологическим исследованием. У 5 больных был выявлен метастаз в одном регионарном лимфоузле, остальные пациенты были без регионарного метастазирования. Группу клинического сравнения в количестве 25 человек составили пациенты с хроническим геморроем вне обострения, которым проводилась колоноскопия. Пациенты обеих групп дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Забор крови у пациентов основной группы осуществлялся в день операции до ее начала. У пациентов группы клинического сравнения кровь брали после исключения рака толстой кишки (после колоноскопии). Исследование крови осуществлялось с помощью тест-системы (BioLegend): мультиплексный набор для определения факторов роста (Angiopoietin-2, (Ang-2), EGF, EPO, FGF-basic, G-CSF, GM-CSF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, SCF, TGF- α , VEGF).

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы Statistica версии 10.0. Проверка нормальности распределения значений переменных в группах наблюдения проводилась с использованием критерия Шапиро–Уилка, распределение принималось нормальным при $p > 0,05$. Для оценки значимости

статистических различий между исследуемыми группами при отсутствии нормального распределения переменных использовали непараметрический ранговый критерий Краскела–Уолиса. Сила корреляции оценивалась как статистически значимая при $p < 0,05$. Для анализа корреляционной связи между исследуемыми признаками применялись коэффициент корреляции Пирсона (для нормально распределённых переменных) и коэффициент корреляции Спирмена (если распределение переменных отличалось от нормального). Сила корреляционной связи между признаками оценивалась по коэффициенту r .

Результаты

Сравнение картины крови у больных основной группы и группы контроля выявило отличия в количественном составе некоторых факторов роста (табл. 1). При раке толстой кишки наблюдалась тенденция увеличения (EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB) уровня факторов роста. В среднем у онкологических пациентов уровень таких сравниваемых веществ, как EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, был значимо выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Самое большое отличие – более чем в 10 раз – установлено по уровню PDGF-AA.

Кроме общих количественных изменений, установлена значимая зависимость уровня исследуемых веществ от пола, возраста пациента, а также степени дифференцировки опухоли. Так, у мужчин с РТК уровень VEGF – 331,8 пг/мл был ниже, чем у женщин – 907,5 пг/мл (корреляция Спирмена – 0,318, корреляция Гамма – 0,367, корреляция Тау Кендалла – 0,261, $p = 0,001$; обратная корреляционная связь слабой силы). Пациенты, включенные в исследуемые группы, были разделены по возрасту на 2 подгруппы: моложе и старше 50 лет. Выявлено, что у больных старше 50 лет уровень Angioprotein-2, G-CSF, EPO, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, VEGF был значимо выше ($p < 0,05$), чем у пациентов до 50 лет (табл. 2). Кроме того, изменения уровня факторов роста (TGF- α , HGF) коррелировали со степенью дифференцировки опухоли (табл. 3). Выявленные закономерности свидетельствуют о наличии причинно-следственной связи колебаний уровня исследуемых веществ в плазме крови больных РТК. Изменение количественного состава указанных веществ может служить дополнительным диагностическим маркером рака толстой кишки.

Обсуждение

Одним из ведущих признаков неоплазии является избыточное деление опухолевых клеток, вызванное нарушениями регуляции процесса пролиферации. В связи с этим целесообразно остановиться на последовательности развития последней. В физиологических условиях клеточная пролиферация включает в себя следующие фазы: связывание фактора роста с его специфическим ре-

цептором → активация рецепторов фактора роста → активация белков внутреннего слоя клеточной мембраны, ядерных белков → репликация ДНК → вход и продвижение клетки по пути митотического цикла, ведущие к ее обязательному делению. В условиях опухоли основными механизмами её автономности являются: продукция опухоли для себя факторов роста, рецепторов к факторам роста, обеспечивающих свой собственный рост изнутри; уменьшение продукции опухоли кейлонов – ингибиторов факторов роста; способность опухоли организовать своё собственное микроокружение. Опухольассоциированные фибробласты считаются наиболее важными элементами клеточного микроокружения опухоли, они являются активными участниками канцерогенеза [6]. Последние продуцируют сигнальные белки: HGF, инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), которые стимулируют пролиферацию клеток опухоли [7], экспрессируют факторы ангиогенеза, имеющие особое значение для развития опухоли: PDGF, VEGF [8], EGF, TGF- α , - β , FGF [9], что прослеживается и в нашем исследовании.

Подтверждена корреляционная связь между локализацией опухоли в кишке, гистологическим вариантом, стадией процесса и уровнем EGF [10]. При этом пол, возраст пациентов и степень дифференцировки опухоли не коррелировали с концентрацией исследуемых веществ [10, 11]. В настоящем исследовании выявлены значимые отличия по гендерному признаку. У мужчин с РТК уровень VEGF ниже, чем у женщин ($p < 0,05$), что может служить доказательством влияния опухолевого процесса на уровень указанных веществ в плазме крови. Наряду с этим выявлено, что у больных РТК в возрасте 50–75 лет уровень Angioprotein-2, G-CSF выше, чем у пациентов в возрасте 20–49 лет ($p < 0,05$). Вероятнее всего, гендерный признак и возраст пациента являются определяющими в формировании разных составляющих механизма автономности опухоли. Установленная зависимость определяется тонкими механизмами канцерогенеза, уходящими своей основой на молекулярный уровень. Для детализации этих механизмов необходимы более масштабные исследования.

В отличие от имеющихся в литературе сведений [10, 11], показана четкая корреляционная связь между степенью дифференцировки опухоли и уровнем TGF- α , HGF. Учитывая, что данные факторы роста синтезируются в самом начале формирования неоплазии, то особенности канцерогенеза в каждом конкретном случае определяют интенсивность и объёмы их выработки, а следовательно, оказывают влияние на степень дифференцировки опухоли в дальнейшем. Вместе с тем при изучении таких клинико-морфологических характеристик опухоли, как размер, форма роста, наличие болевого синдрома и опухолевого стеноза, статистически

Таблица 1/Table 1

Уровень исследуемых факторов роста (средние значения, пг/мл)
The level of the studied growth factors (average, pg/ml)

| Факторы роста/ Growth factors | Основная группа/ Main group | Группа клинического сравнения/ Clinical comparison group | p |
|----------------------------------|--------------------------------|---|---------|
| Angioprotein-2 | 9,5 | 9,8 | >0,05 |
| EGF | 291 | 178,0 | 0,018 |
| EPO | 411 | 147,0 | >0,05 |
| FGF-basic | 9,5 | 8,7 | >0,05 |
| G-CSF | 23,1 | 15,5 | >0,05 |
| GM-CSF | 3,4 | 3,1 | >0,05 |
| HGF | 306,4 | 70,4 | <0,0001 |
| M-CSF | 114,5 | 56,5 | 0,008 |
| PDGF-AA | 12027,4 | 1251,0 | 0,0004 |
| PDGF-BB | 14329,2 | 4338,1 | 0,022 |
| CSF | 49,7 | 36,8 | >0,05 |
| TGF- α | 7,4 | 7,6 | >0,05 |
| VEGF | 600,0 | 290,4 | >0,05 |

Таблица 2/Table 2

Уровень исследуемых веществ у пациентов разных возрастных групп
The level of test substances in patients of different age groups

| Параметры/ Parameters | Основная группа/ Main group | | Группа клинического сравнения/ Clinical comparison group | | | | |
|--|--------------------------------|-------|---|--------|---------|---------|--------|
| | Angioprotein-2 | G-CSF | EPO | M-CSF | PDGF-AA | PDGF-BB | VEGF |
| Уровень вещества (пг/мл), 50–75 лет/ Substance level (pg/ml), 50–75 years old | 12,7 | 26,4 | 245,6 | 95,2 | 4222,8 | 12074,8 | 536 |
| Уровень вещества (пг/мл), 20–49 лет Substance level (pg/ml), 20–49 years old | 3,8 | 10,7 | 104,5 | 43,3 | 661,7 | 3310,3 | 234,5 |
| Корреляция Спирмена/ Spearman's correlation | 0,037 | 0,06 | -0,23 | -0,314 | -0,216 | -0,252 | -0,25 |
| Корреляция Гамма/ Gamma correlation | 0,026 | 0,08 | -0,22 | -0,314 | -0,213 | -0,258 | -0,236 |
| Корреляция Тау Кендалла/ Tau Kendall correlation | 0,025 | 0,08 | -0,17 | -0,242 | -0,164 | -0,199 | -0,182 |
| p | 0,022 | 0,04 | 0,037 | 0,013 | 0,037 | 0,022 | 0,051 |

Таблица 3/Table 3

Уровень исследуемых веществ у пациентов с разной степенью дифференцировки опухоли
The level of the studied substances in patients with different grades of tumor differentiation

| Параметры/Parameters | TGF- α | HGF |
|---|---------------|-------|
| Уровень вещества (пг/мл), высокодифференцированная аденокарцинома/ The level of the substance (pg/ml), highly differentiated adenocarcinoma | 10,1 | 436,8 |
| Уровень вещества (пг/мл), умереннодифференцированная аденокарцинома / The level of the substance (pg/ml), moderately differentiated adenocarcinoma | 6,6 | 225,6 |
| Корреляция Спирмена/Spearman's correlation | -0,29 | -0,22 |
| Корреляция Гамма/Gamma correlation | -0,357 | -0,27 |
| Корреляция Тау Кендалла/Tau Kendall correlation | -0,232 | -0,17 |
| p | 0,013 | 0,048 |

достоверных отличий не обнаружено. Выявлены корреляционные связи между уровнем отдельных факторов роста и рядом клинико-морфологических признаков опухоли, что может быть использовано в клинической практике.

Заключение

Уровень содержания EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB в плазме крови больных РТК достоверно отличается от такового в группе людей с неопухолевыми патологиями, что может быть исполь-

зовано как дополнительный метод неинвазивной диагностики РТК. Выявлена корреляция между уровнем содержания: VEGF – с полом; Angiopoietin-2, G-CSF, EPO, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, VEGF – с возрастом пациента; TGF- α , HGF – со степенью дифференцировки опухоли. Указанные данные свидетельствуют о том, что патофизиологические процессы, протекающие во время канцерогенеза, имеют свои биологические особенности, которые требуют дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Волков С.В., Лобанов С.Л. Критерии клинической агрессивности колоректального рака. Забайкальский медицинский вестник. 2018; 2: 69–76. [Volkov S.V., Lobanov S.L. Criteria for the clinical aggressiveness of colorectal cancer. Transbaikalian Medical Bulletin. 2018; 2: 69–76. (in Russian)].
2. Üçüncü M., Serilmez M., Sari M., Bademler S., Karabulut S. The Diagnostic Significance of PDGF, EphA7, CCR5, and CCL5 Levels in Colorectal Cancer. Biomolecules. 2019 Sep 9; 9(9): 464. doi: 10.3390/biom9090464.
3. Krzystek-Korpaczka M., Zawadzki M., Kapturkiewicz B., Lewandowska P., Bednarz-Misa I., Gorska S., Witkiewicz W., Gamian A. Subsite heterogeneity in the profiles of circulating cytokines in colorectal cancer. Cytokine. 2018 Oct; 110: 435–441. doi: 10.1016/j.cyt.2018.05.015.
4. Lian G., Chen S., Ouyang M., Li F., Chen L., Yang J. Colon Cancer Cell Secretes EGF to Promote M2 Polarization of TAM Through EGFR/PI3K/AKT/mTOR Pathway. Technol Cancer Res Treat. 2019 Jan 1; 18: 1533033819849068. doi: 10.1177/1533033819849068.
5. Herrera A., Herrera M., Guerra-Perez N., Galindo-Pumariño C., Larriba M.J., García-Barberán V., Gil B., Giménez-Moyano S., Ferreira-Monteagudo R., Veguillas P., Candia A., Peña R., Pinto J., García-Bermejo M.L., Muñoz A., García de Herreros A., Bonilla F., Carrato A., Peña C. Endothelial cell activation on 3D-matrices derived from PDGF-BB-stimulated fibroblasts is mediated by Snail1. Oncogenesis. 2018 Sep 24; 7(9): 76. doi: 10.1038/s41389-018-0085-z.

6. Зибиров Р.Ф., Мозеров С.А. Характеристика клеточного микроокружения опухоли. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2018; 2: 67–72. [Zibirov R.F., Mozerov S.A. Characterization of the tumor cell microenvironment. Oncology. Journal named after P.A. Herzen. 2018; 2: 67–72. (in Russian)].
7. Cirri P., Chiarugi P. Cancer-associated-fibroblasts and tumour cells: a diabolic liaison driving cancer progression. Cancer Metastasis Rev. 2012 Jun; 31(1–2): 195–208. doi: 10.1007/s10555-011-9340-x.
8. Kamińska K., Szczylik C., Bielecka Z.F., Bartnik E., Porta C., Lian F., Czarnecka A.M. The role of the cell-cell interactions in cancer progression. J Cell Mol Med. 2015 Feb; 19(2): 283–96. doi: 10.1111/jcmm.12408.
9. Светозарский Н.Л., Артифексова А.А., Светозарский С.Н. Фактор роста эндотелия сосудов: биологические свойства и практическое значение (обзор литературы). Медицина и образование в Сибири. 2015; 5: 20–32. [Svetozarsky N.L., Artifeksova A.A., Svetozarsky S.N. Vascular endothelial growth factor: biological properties and practical significance (literature review). Medicine and education in Siberia. 2015; 5: 20–32. (in Russian)].
10. Sinha A., Kumar S. Prognostic value of Epidermal growth factor receptor in colorectal carcinoma. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2018 March; 12(3): 1–4. doi: 10.7860/JCDR/2018/34864.11234.
11. Mouzakiti A., Nastos C., Vlachodimitropoulos D., Gennatas C., Kondi-Pafiti A., Voros D. Prognostic significance of EGFR and COX-2 expression in colorectal cancer and their association. A study in Greek population. J BUON. 2018 Jan-Feb; 23(1): 23–28.

Поступила/Received 19.06.2020
Принята в печать/Accepted 03.08.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Волков Степан Владимирович, ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (г. Чита, Россия). E-mail: vsv_19@mail.ru. ORCID: 0000-0002-8696-9562.

Лобанов Сергей Леонидович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (г. Чита, Россия). ORCID: 0000-0003-1665-3754.

Терешков Павел Петрович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии, НИИ молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (г. Чита, Россия). ORCID: 0000-0002-8601-3499.

ВКЛАД АВТОРОВ

Степан Владимирович Волков: сбор материала, подготовка текста, разработка концепции и дизайна исследования, статистическая обработка данных, анализ полученных данных, редактирование.

Сергей Леонидович Лобанов: разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных, редактирование.

Павел Петрович Терешков: сбор материала, получение результатов.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Stepan V. Volkov, MD, Oncology Department, Chita State Medical Academy (Chita, Russia). E-mail: vsv_19@mail.ru. ORCID: 0000-0002-8696-9562.

Sergey V. Lobanov, MD, Professor, Head of Surgery Department, Chita State Medical Academy (Chita, Russia). ORCID: 0000-0003-1665-3754.

Pavel P. Tereshkov, MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Experimental and Clinical Biochemistry and Molecular Medicine, Chita State Medical Academy (Chita, Russia). ORCID: 0000-0002-8601-3499.

AUTHOR CONTRIBUTION

Stepan V. Volkov: data collection, study design and conception, statistical data analysis, editing of the manuscript.

Sergey V. Lobanov: study conception and design, data analysis, editing of the manuscript.

Pavel P. Tereshkov: data collection, data analysis and interpretation, critical revision for important intellectual content.

Funding

This study required no additional funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.