

УДК 616.34-006.6:616-08-059
DOI 10.34014/2227-1848-2020-4-74-86

ЭКСПРЕССИЯ ВАСКУЛОЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО И ТРОМБОЦИТАРНОГО ФАКТОРОВ РОСТА В ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА КАК ФАКТОР ПРОГНОЗА РАННЕГО РЕЦИДИВА

И.А. Богомолова, Д.Р. Долгова, И.И. Антонеева,
Т.П. Генинг, Т.И. Кузнецова

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»,
г. Ульяновск, Россия

Прогностическими факторами, определяющими тактику лечения при колоректальном раке (КРР), являются стадия заболевания, степень дифференцировки опухоли, микросателлитная нестабильность, степень инвазии, индекс пролиферативной активности. При этом оценка эффективности адъювантной химиотерапии при КРР не предполагает оценку ангиогенных факторов в первичной опухоли.

Цель работы – оценить прогностическую роль экспрессии PDGFAA и VEGFA в опухолевой ткани на II–III стадиях колоректального рака.

Материалы и методы. В качестве материала для исследования использованы парафиновые блоки первичной опухоли КРР (n=50). С помощью метода ИГХ исследована экспрессия васкулоэндотелиального и тромбоцитарного факторов роста путем расчета ИГХ-балла в опухолевой паренхиме и строме КРР.

Результаты. По результатам ИГХ-окрашивания опухоль КРР экспрессирует факторы VEGFA и PDGFAA в 92 % случаев, в линии резекции – в 37 % образцов. Отличий в экспрессии VEGFA и PDGFAA в опухолевой паренхиме при КРР в зависимости от стадии процесса, степени дифференцировки выявлено не было. Кумулятивный риск прогрессирования заболевания в течение года после операции у больных с КРР II–III стадий при гиперэкспрессии VEGFA+PDGFAA в первичной опухоли выше в 4,9 раза (ДИ 2,123–11,089, p=0,011) по сравнению с группой пациентов со сниженной продукцией изученных ангиогенных факторов.

Выводы. Полученные данные позволяют предполагать, что коэкспрессия ангиогенных факторов VEGFA и PDGFAA в опухоли может отражать исходный профиль КРР в отношении неоангиогенеза. При ИГХ-балле VEGFA и/или PDGFAA выше или равном 6 возрастает риск рецидива заболевания в течение 1 года от момента начала наблюдения, что является неблагоприятным прогностическим фактором.

Ключевые слова: колоректальный рак, васкулоэндотелиальный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, адъювантная химиотерапия.

Введение. Колоректальный рак (КРР) занимает лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости в мире и РФ, причем в последние 10 лет отмечается неуклонная тенденция к росту заболеваемости. Среднегодовой прирост заболеваемости в период 2008–2018 гг. составил 1,47 % (стандартизированные показатели на 100 тыс. населения), заболеваемость КРР в России в этот период возросла с 77,6 до 111,6 на 100 тыс. населения [1, 2].

Адъювантная полихимиотерапия (АХТ) по схемам FOLFOX и HELOX, являясь стан-

дартом лечения КРР на II–III стадиях заболевания после проведенного радикального оперативного вмешательства, сопровождается низкой ожидаемой эффективностью. Значительная часть пациентов, особенно на III стадии заболевания, не получает преимуществ от АХТ, что приводит в 30 % случаев к возникновению отдаленного метастазирования в течение 1 года после окончания лечения. В исследовании PETACC-8 эффективность АХТ не была установлена и не меняла значений безрецидивной выживаемости [3]. Проблема ранних рецидивов при стандартном химиоте-

рапевтическом подходе при КРР состоит в том, что назначение АХТ на II–III стадиях заболевания в настоящее время проводят без определения каких-либо предиктивных молекулярно-генетических маркеров чувствительности опухоли. В 30 % случаев это приводит к использованию малоэффективных препаратов, развитию выраженных побочных эффектов и вторичной химиорезистентности. Прогностическими факторами, определяющими тактику лечения при КРР, являются стадия заболевания, степень дифференцировки опухоли, микросателлитная нестабильность, степень инвазии, индекс пролиферативной активности [4]. Клиническими маркерами для оценки эффективности полихимиотерапии (ПХТ) являются определение СА19/9 и РЭА в сыворотке крови пациентов с КРР в динамике лечения, однако чувствительность данного метода невелика.

Семейство факторов роста тромбоцитов (PDGF) включает 5 изоформ специфических лигандов: PDGF-AA, PDGFAB, PDGFBB, PDGFCC и PGDFDD, которые взаимодействуют с тремя димерами их рецепторов и инициируют комплексный сигнальный каскад MAP-киназы. Показано, что PDGF являются важными факторами для нормального роста и деления тканей, участвующих в формировании кровеносных сосудов. При этом сигнальный путь PDGFs/PDGFRs` участвует в ангиогенезе в основном за счет перicyтов и гладкомышечных клеток сосудов. Каскад MAP-киназы, инициируемый PDGF, активирует специфические гены, участвующие в ангиогенезе, пролиферации, инвазии и метастазировании [5].

Существует точка зрения, что тромбоцитарный фактор роста регулирует миграцию, инвазию, пролиферацию, апоптоз и метастазирование в различных раковых клетках. Сверхэкспрессия PDGFD наблюдается при ряде злокачественных новообразований человека, включая рак груди, простаты и поджелудочной железы. Также показано, что PDGFD активируется не только в тканях при КРР, но также и в клеточных линиях КРР [6]. Результаты исследований, выполненных на клеточной линии рака толстой кишки DLD-1, позволили авторам представить инициацию КРР с

экспрессией TGFb, который секретируется клетками КРР, активирует рецепторы TGFb в опухолевых клетках и усиливает экспрессию PDGFD. Последний активирует сверхэкспрессию рецепторов PDGFR в опухолевых клетках. Таким образом, процесс замыкается на аутокринных или паракринных механизмах. Далее, по мнению авторов, PDGFRb активирует сигнальную молекулу FP3 в мембране; в итоге THBS4 секретируется во внеклеточное пространство и индуцирует адгезию, ангиогенез и пролиферацию в опухоли [7].

В то же время, по данным ряда авторов, не наблюдалось различий в тканевых уровнях экспрессии PDGFD в опухолевых и нормальных тканевых лизатах при КРР [8], либо экспрессия белка PDGFD была сильнее в нормальной ткани по сравнению с опухолевой тканью [9].

Показано, что экспрессия PDGFB в основном локализовалась как в нормальных эпителиальных клетках, выстилающих кровеносные сосуды, так и в связанных с опухолью стромальных клетках злокачественного микроокружения. А экспрессия активированной формы рецептора rhPDGFR-b наблюдалась как в эпителиальных клетках нормальной ткани, так и в строме опухолевой ткани [10, 11].

Роль VEGF в прогрессировании КРР трудно переоценить. Анти-VEGF-терапия входит в стандарт лечения. В то же время при локализованном процессе антиангиогенные препараты не демонстрируют должной эффективности [12, 13]. При этом вклад VEGF в канцерогенез КРР не ограничивается стимуляцией ангиогенеза и васкулогенной мимикрии [14]. В исследованиях *in vitro* показано, что ингибирование внутриклеточной передачи сигналов VEGF сильно подавляет миграцию и инвазию опухолевых клеток, воздействуя на белки, участвующие в подвижности клеток [15]. В то же время данные литературы о прогностической ценности VEGFA противоречивы [16].

Цель исследования. Оценить прогностическую роль экспрессии PDGFAA и VEGFA в опухолевой ткани КРР.

Материалы и методы. Ретроспективное исследование выполнено на базе ГУЗ Областной клинической онкологической диспансер

г. Ульяновска (УОКОД). Исследуемая группа пациентов имела верифицированный рак толстого кишечника, подтвержденный гистологическим исследованием опухоли до проведения специального лечения. За период 2014–2018 гг. отобрана группа пациентов (n=50), проходивших лечение в ГУЗ УОКОД и подписавших добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Описание клинико-морфологических параметров опухоли в исследуемой группе пациентов с КРР представлено в табл. 1. В большинстве случаев опухоль локализовалась в левой половине ободочной кишки и прямой кишке – 74 % (n=37), локализация опухоли в правом отделе встретилась в 26 % случаев (n=13) (табл. 1). Общее состояние пациентов оценивалось по 4-балльной шкале ECOG и на момент прохождения специального лечения не превышало 2 баллов. Ожидаемая продолжительность жизни у всех пациентов была не менее 12 мес. АХТ по схеме: 5-фторпиримидины + оксалиплатин (FOLFOX/XELOX) – всем пациентам назначалась через 4–6 нед. после операции. Оценка клинической эффективности лечения проводилась каждые 2 мес. (4 курса FOLFOX / 2 курса XELOX), а также после завершения всех курсов АХТ. План обследования включал общеклинический и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, кровь на РЭА, СА 19/9, лучевые методы (рентгенография органов грудной клетки в двух проекциях, УЗИ органов брюшной полости, малого таза, забрюшинного пространства). При сомнительных результатах стандартных методов обследования выполнялась мультиспиральная компьютерная томография или магнитно-резонансная томография органов грудной клетки, брюшной полости, ма-

лого таза с внутривенным контрастированием. По окончании лечения пациенты находились под динамическим наблюдением врача-онколога с периодическим контрольным обследованием в соответствии со стандартными критериями ВОЗ.

Учитывая промежуток времени от момента окончания АХТ до прогрессирования заболевания все пациенты были разделены на группы:

- платиночувствительные – длительность бесплатинового интервала более 6 мес.;
- платинорезистентные – длительность бесплатинового интервала менее 6 мес.;
- платинорефрактерные – прогрессирование процесса во время АХТ или в течение одного месяца после лечения.

Анализировалась безрецидивная выживаемость – промежуток времени с момента начала ПХТ до развития рецидива или появления метастазов. Время до прогрессирования заболевания определялось как промежуток времени от момента начала наблюдения до даты фиксирования рецидива или метастазирования опухоли.

Критериями исключения из исследования стали: IV стадия заболевания, отдаленные метастазы, предоперационная лучевая или химиолучевая терапия, АХТ только фторпиримидинами, соматические заболевания в стадии декомпенсации, противопоказания к проведению ПХТ, «положительный» край резекции при гистологическом исследовании опухоли.

Все исследования проводились после одобрения локальным этическим комитетом Института медицины, экологии и физической культуры ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (протокол № 9 от 15.09.2017).

Таблица 1
Table 1

Характеристика больных КРР, включенных в экспериментальную группу
Characteristics of CRC patients included in the experimental group

Показатель Characteristic	Количество Number
Пол: Gender: мужской male женский female	25 (50 %) 25 (50 %)
Возраст: Age: 25–44 45–59 60–75	7 (14 %) 26 (54 %) 17 (32 %)
Стадия заболевания: Disease status: II III	13 (26 %) 37 (74 %)
Локализация опухоли: Tumor localization: C18 C19 C20	32 (64 %) 3 (6 %) 15 (30 %)
Степень дифференцировки опухоли (G): Tumor grade (G): низкодифференцированная (G3) high (G3) умеренно дифференцированная (G2) moderate (G2) высокодифференцированная (G1) low (G1)	4 (8 %) 21 (42 %) 13 (26 %)
Показатель T: T score: 2 3 4	2 (4 %) 33 (66 %) 15 (30 %)
Показатель N: N score: 0 1 2	20 (36 %) 24 (50 %) 6 (14 %)
Наличие мутаций EGFR-сигнального пути (nRAS, KRAS, BRAF): EGFR signaling pathway mutations (nRAS, KRAS, BRAF): есть yes нет no	21 (42 %) 29 (58 %)

ИГХ-исследование выполнялось на парафиновых срезах опухолевой ткани. Срезы толщиной 5 мкм, содержащие не менее 70–80 % клеток аденокарциномы толстого кишечника, переносились на предметные стекла SuperFrost. Затем срезы в горизонтальном положении помещались в термостат на 30 мин при температуре 60 °С. Инкубация с первичными антителами (табл. 2) проводилась в течение 45 мин при комнатной температуре. В качестве визуализирующей системы использовали H-Gistofain Simple Stain Max (Nicheirei, Yapan) в комплексе с DAB. В качестве позитивного контроля – ткань почки. Полуколичественная оценка проводилась с помощью рас-

чета ИГХ-балла, представляющего собой произведение баллов процента и интенсивности положительно окрашенных опухолевых/стромальных клеток [17, 18]. Количество положительно окрашенных клеток оценивалось следующим образом: нет положительных клеток – 0 баллов; 1–25 % – 1 балл; 26–50 % – 2 балла; 50 % и более – 3 балла. Интенсивность ИГХ-окрашивания определялась по следующим критериям: отсутствие окрашивания – 0; слабая – 1; умеренная – 2; сильная – 3. Таким образом, ИГХ-балл в образцах опухоли КРР варьировал от 0 до 9. В качестве внутреннего контроля использовался образец нормальной слизистой оболочки толстой кишки (n=5).

Таблица 2

Table 2

Характеристика использованных первичных антител

Characteristics of the primary antibodies used

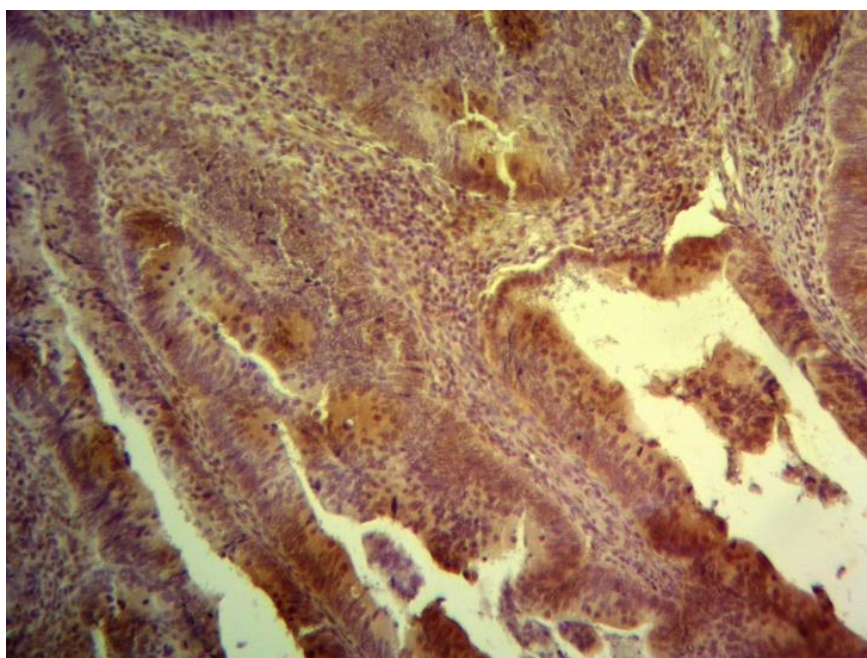
Антитела Antibody	Разведение, концентрация Dilution, concentration	Каталожный номер, фирма производитель Catalog number, manufacturer
VEGFA (Rabbit Polyclonal antibody to VEGF) (Vascular endothelial growth factor A)	1:800 1,36 mg/ml	GTX102643 GeneTek, USA
PDGFAA (Rabbit Polyclonal antibody to PDGFAA) (Platelet Derived Growth Factor AA)	1:250 0,31 mg/ml	PAA523Hu01 Cloud Clone, USA

Результаты. С целью оценки комплексного влияния ангиогенных факторов в опухоли на время до прогрессирования у больных с КРР II–III стадий был использован ИГХ-балл, учитывающий и VEGFA-, и PDGFAA-статус. ИГХ-балл, равный или более 6, указывает на умеренную или сильную экспрессию белка более чем в 50 % опухолевых клеток (рис. 1, 2).

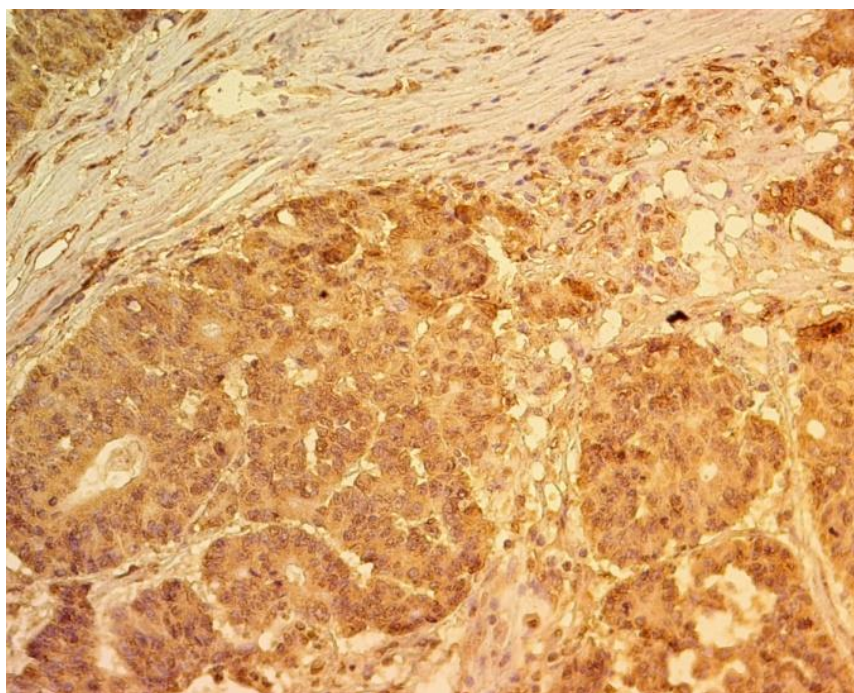
Нами установлено, что в 92 % случаев опухоль КРР экспрессирует VEGFA и PDGFAA, в линии резекции – в 37 % образцов. При ИГХ-реакции опухолевая паренхима в большинстве препаратов окрашивается од-

нородно, включая от 50 до 100 % опухолевых клеток. Строма в подавляющем числе случаев окрашена диффузно, очагово и менее интенсивно. Яркую позитивную реакцию дают отдельные клетки микроокружения (фибробласты, лимфоциты).

Отличий в экспрессии VEGFA и/или PDGF-AA в опухолевой паренхиме при КРР в зависимости от стадии процесса, степени дифференцировки выявлено не было. При разделении пациентов с КРР на группы по чувствительности к препаратам платины отличий между ИГХ-баллами по VEGFA и PDGFAA также не установлено (рис. 3).



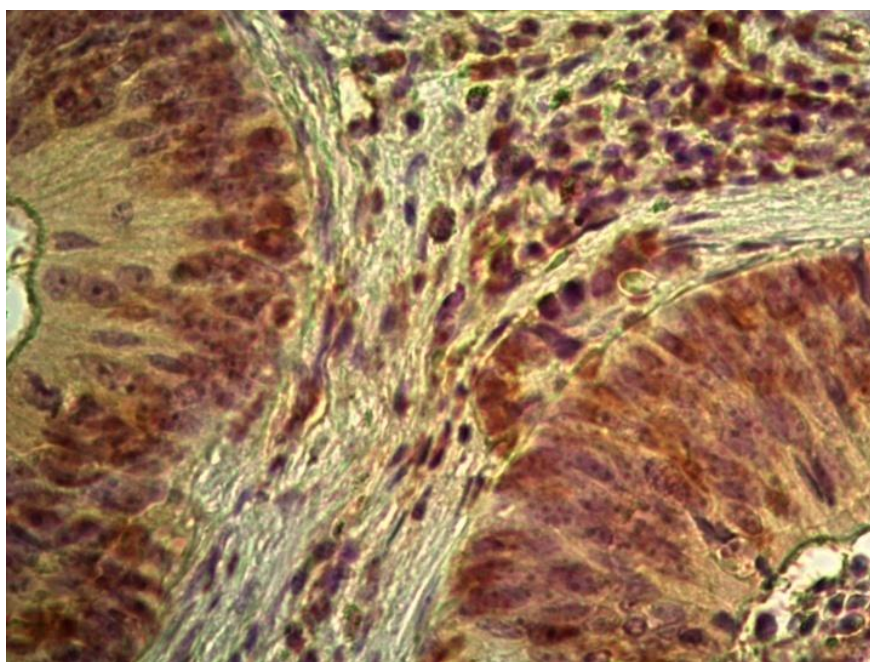
А А



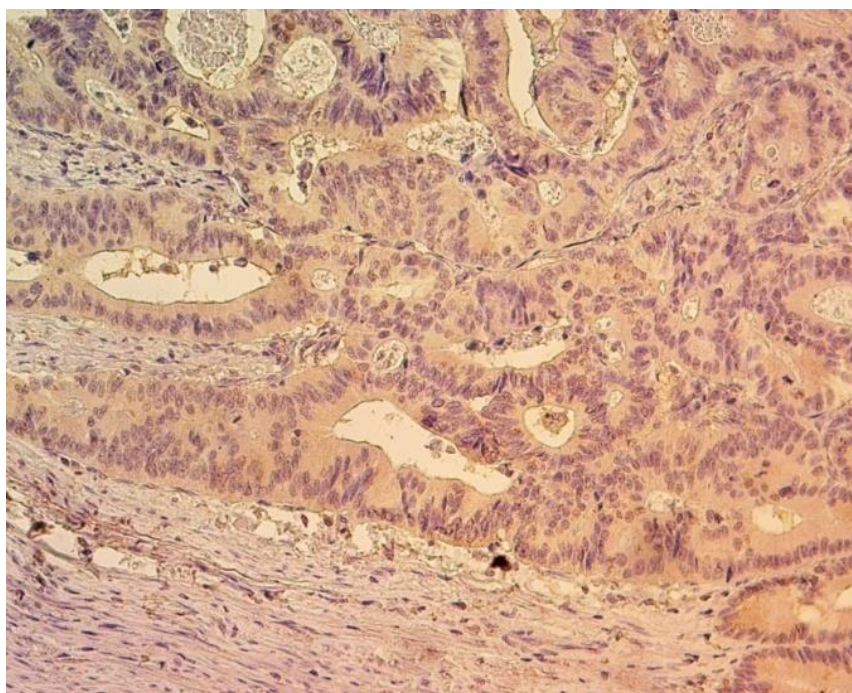
Б В

Рис. 1. ИГХ-реакция для VEGFA в аденокарциноме толстой кишки:
А – неоднородное умеренное цитоплазматическое окрашивание опухоли, ×400;
Б – выраженная ИГХ-реакция, ×400

Fig. 1. IHC staining for VEGFA in colon adenocarcinoma:
А – non-homogeneous moderate cytoplasmic tumor staining, ×400;
В – strong IHC staining, ×400



А А



Б В

Рис. 2. ИГХ-реакция для PDGFAA:

А – умеренная цитоплазматическая и ядерная реакция в умеренно дифференцированной аденокарциноме толстого кишечника при отсутствии стромального окрашивания (ИГХ-балл равен 6), $\times 1000$;

Б – слабая однородная реакция (ИГХ-балл равен 3), $\times 400$

Fig. 2. IHC staining for PDGFAA:

A – moderate cytoplasmic and nuclear staining in moderately differentiated colon adenocarcinoma without stromal staining (IHC score = 6), $\times 1000$;

B – weak homogeneous staining in adenocarcinoma cells (IHC score = 3), $\times 400$

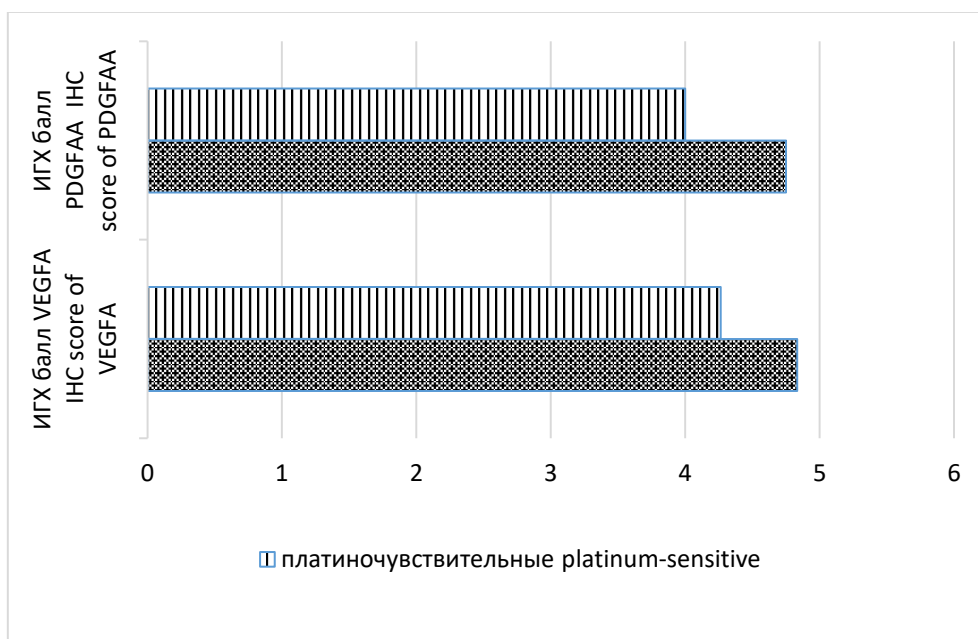


Рис. 3. ИГХ-балл VEGFA и PDGFAA в первичной опухоли КРП в группах пациентов с разной платиновичувствительностью

Fig. 3. IHC score for VEGFA and PDGFAA in primary CRC tumor in patients with different platinum sensitivity

Анализ выживаемости по Каплану–Майеру в зависимости от ИГХ-балла, учитывающий суммарный экспрессионный профиль VEGFA и/или PDGFAA, свидетельствует о выраженном укорочении времени без прогрессирования у тех пациентов с КРП II–III стадий,

у которых в первичной опухоли ИГХ-балл составил 6 и более. Медиана показателя выживаемости в группе пациентов с ИГХ-баллом менее 6 не была достигнута, с ИГХ-баллом от 6 составила 12 мес. (log-rank-критерий $p=0,0003$) (рис. 4).

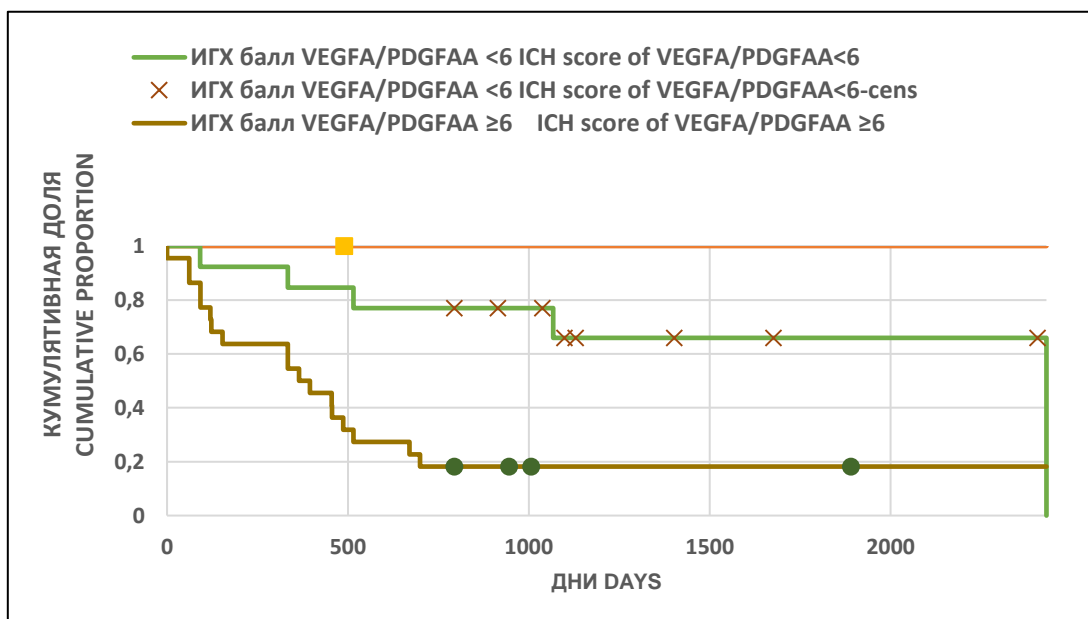


Рис. 4. Кривая выживаемости без прогрессирования больных с КРП в зависимости от ИГХ-балла VEGFA/PDGFAA в опухоли

Fig. 4. Curve of progression-free survival in CRC patients depending on the IHC score for VEGFA/PDGFAA in the tumor tissue

Кумулятивный риск прогрессирования заболевания в течение года после операции у больных с КРР II–III стадий при гиперэкспрессии VEGFA+PDGFAA в первичной опухоли оказался выше в 4,9 раза (ДИ 2,123–11,089, $p=0,011$) по сравнению с группой пациентов со сниженной продукцией изученных ангиогенных факторов.

Обсуждение. Патогенез КРР связан с процессами активации онкогенов и инактивации антионкогенов. Полученные нами результаты, подтверждающие значимое усиление экспрессии PDGF в опухолевой ткани по сравнению с парными нормальными образцами ткани толстого кишечника, позволяют предполагать важную роль фактора роста тромбоцитов в канцерогенезе толстой кишки.

Среди ряда факторов, участвующих в ангиогенезе, VEGFA широко исследован в качестве прогностических маркеров, но его значимость в прогнозировании исхода больных КРР довольно спорная. Действительно, в то время как некоторые исследования показывают связь между сверхэкспрессией VEGFA и плохими исходами КРР [19–21], другие демон-

стрируют, что либо VEGFA не имеет значительной прогностической ценности у пациентов с КРР [22–25], либо он предполагает прогностическую значимость только в сочетании с другими факторами [26, 27]. Нами обнаружена положительная связь средней силы по Пирсону между процентом позитивно окрашенных опухолевых клеток к VEGFA и PDGFAA ($R=0,461$; $p=0,026$). Коэкспрессия ангиогенных факторов в опухоли может отражать исходный профиль КРР в отношении неоангиогенеза.

Заключение. Гиперэкспрессия VEGFA и PDGFAA в опухоли является фактором неблагоприятного прогноза при КРР и связана с высокой частотой рецидивов и возникновения опухолевых диссеминатов на фоне или в течение одного года после проведения АХТ. Опухолевые клетки при аденокарциноме толстого кишечника одновременно экспрессируют эти белки, включенные в процесс васкуляризации на разных этапах неоангиогенеза. Представляется целесообразной совместная ИГХ-оценка этих факторов, что имеет прогностическую значимость в отношении эффективности АХТ на II–III стадиях КРР.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Каприна А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии»; 2019. 236.
2. Федянин М.Ю. Адьювантная терапия больных раком толстой кишки II стадии – трудное решение для химиотерапевта. Злокачественные опухоли. 2019; 9 (3s1): 15–22.
3. Laurent-Puig P., Marisa L., Taieb J. Colon cancer molecular subtype intratumoral heterogeneity and its prognostic impact: An extensive molecular analysis of the PETACC-8. *Annals of Oncology*. 2018; 29 (suppl. 8): 60.
4. Bosman F.T., Carneiro F., Hruban R.H., Theise N.D. WHO classification of tumors the digestive system. Vol. 3. 4th Edition. Lyon; 2010. 417.
5. Roberta M., Manzat S., Balacescu L., Gherman C., Chira R.I., Craiu A., Mircea P.A., Lisencu C., Balacescu O. The Role of PDGFs and PDGFRs in Colorectal Cancer. *Mediators of Inflammation*. 2017; 2017: 4708076.
6. Jiang B., Chen J., Yuan W., Ji J., Liu Z., Wu L., Tang Q., Shu X. Platelet-derived growth factor-D promotes colorectal cancer cell migration, invasion and proliferation by regulating Notch1 and matrix metalloproteinase-9. *Oncology Letters*. 2018; 15 (2): 1573–1579.
7. Kim M.S., Choi H.S., Wu M. Potential Role of PDGFR β -Associated THBS4 in Colorectal Cancer Development. *Cancers (Basel)*. 2020; 12 (9): 2533.
8. Chen J., Yuan W., Wu L., Tang Q., Xia Q., Ji J. PDGF-D promotes cell growth, aggressiveness, angiogenesis and EMT transformation of colorectal cancer by activation of Notch1/Twist1 pathway. *Oncotarget*. 2017; 8 (6): 9961–9973.
9. Olsen R.S., Dimberg J., Geffers R., Wågsäter D. Possible Role and Therapeutic Target of PDGF-D Signalling in Colorectal Cancer. *Cancer Invest*. 2019; 37 (2): 99–112.

10. Lindmark G., Sundberg C., Glimelius B., Pahlman L., Rubin K., Gerdin B. Stromal expression of platelet-derived growth factor beta-receptor and platelet-derived growth factor B-chain in colorectal cancer. *Lab. Invest.* 1993; 69 (6): 682–689.
11. Sundberg C., Ljungstrom M., Lindmark G., Gerdin B., Rubin K. Microvascular pericytes express platelet-derived growth factor-beta receptors in human healing wounds and colorectal adenocarcinoma. *Am. J. Pathol.* 1993; 143 (5): 1377–1388.
12. Федянин М.Ю., Гладков О.А., Гордеев С.С., Рыков И.В., Трякин А.А. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака ободочной кишки и ректосигмоидного соединения. Злокачественные опухоли. 2019; 9 (3s2): 324–364.
13. Chibaudel B., Henriques J., Rakez M., Brenner B., Won Kim T., Martinez-Villacampa M., Gallego-Plazas J., Cervantes A., Shim K., Jonker D., Guerin-Meyer V., Mineur L., Banzi C., Dewdney A., Dejthevaporn T., Bloemendal H., Roth A., Moehler M., Aranda E., Cutsem E.V., Tabernero J., Schmoll H.-J., Hoff P., André T., de Gramont A. Association of Bevacizumab Plus Oxaliplatin-Based Chemotherapy With Disease-Free Survival and Overall Survival in Patients With Stage II Colon Cancer: A Secondary Analysis of the AVANT Trial. *JAMA Network Open.* 2020; 3 (10): e2020425.
14. Lizárraga-Verdugo E., Avendaño-Félix M., Bermúdez M., Ramos-Payán R., Pérez-Plasencia C. Cancer Stem Cells and Its Role in Angiogenesis and Vasculogenic Mimicry in Gastrointestinal Cancers. *Frontiers in oncology.* 2020; 10: 413.
15. Bhattacharya R., Fan F., Wang R., Ye X., Xia L., Boulbes D., Ellis M.L. Intracrine VEGF signalling mediates colorectal cancer cell migration and invasion. *Br. J. Cancer.* 2017; 117: 848–855.
16. Dinami R., Porru M., Amoreo C.A., Sperduti I., Mottolese M., Buglioni S., Marinelli D., Maugeri-Saccà M., Sacconi A., Blandino G., Leonetti C., Di Rocco G., Verdina A., Spinella F., Fiorentino F., Ciliberto G., Biroccio A., Zizza P. TRF2 and VEGF-A: an unknown relationship with prognostic impact on survival of colorectal cancer patients. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2020; 39: 111.
17. Medves S., Duhoux F., Ferrant A., Toffalini F., Ameye G., Libouton J.-M., Poirer H.A., Demoulin J.-B. KANK1, a candidate tumor suppressor gene, is fused to PDGFRB in an imatinib responsive myeloid neoplasm with severe thrombocytopenia. *Leukemia.* 2010; 24: 1052–1055.
18. Terris B., Scoazec J.Y., Rubbia L., Bregeaud L., Pepper M.S., Ruszniewski P., Belghiti J., Fléjou J., Degott C. Expression of vascular endothelial growth factor in digestive neuroendocrine tumours. *Histopathology.* 1998; 32: 133–138.
19. Kang S.M., Maeda K., Onoda N., Chung Y.S., Nakata B., Nishiguchi Y., Sowa M. Combined analysis of p53 and vascular endothelial growth factor expression in colorectal carcinoma for determination of tumor vascularity and liver metastasis. *Int. J. Cancer.* 1997; 74 (5): 502–507.
20. Zafirellis K., Agogiannis G., Zachaki A., Gravani K., Karameris A., Kombouras C. Prognostic significance of VEGF expression evaluated by quantitative immunohistochemical analysis in colorectal cancer. *J. Surg. Res.* 2008; 147 (1): 99–107.
21. Des Guetz G., Uzzan B., Nicolas P., Cucherat M., Morere J.F., Benamouzig R., Breau J.-L., Perret G.-Y. Microvessel density and VEGF expression are prognostic factors in colorectal cancer. Meta-analysis of the literature. *Br. J. Cancer.* 2006; 94 (12): 1823–1832.
22. Lee J.C., Chow N.H., Wang S.T., Huang S.M. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in colorectal cancer patients. *Eur. J. Cancer.* 2000; 36 (6): 748–753.
23. Takahashi Y., Tucker S.L., Kitadai Y., Koura A.N., Bucana C.D., Cleary K.R., Ellis L.M. Vessel counts and expression of vascular endothelial growth factor as prognostic factors in node-negative colon cancer. *Arch. Surg.* 1997; 132 (5): 541–546.
24. Zheng S., Han M.Y., Xiao Z.X., Peng J.P., Dong Q. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression and neovascularization in colorectal carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2003; 9 (6): 1227–1230.
25. Zygon J., Szajewski M., Kruszewski W.J., Rzepko R. VEGF, Flt-1, and microvessel density in primary tumors as predictive factors of colorectal cancer prognosis. *Mol. Clin. Oncol.* 2017; 6 (2): 243–248.
26. Saad R.S., Liu Y.L., Nathan G., Celebrezze J., Medich D., Silverman J.F. Endoglin (CD105) and vascular endothelial growth factor as prognostic markers in colorectal cancer. *Mol. Pathol.* 2004; 17 (2): 197–203.
27. Martins S.F., Reis R.M., Rodrigues A.M., Baltazar F., Filho A.L. Role of endoglin and VEGF family expression in colorectal cancer prognosis and anti-angiogenic therapies. *World J. Clin. Oncol.* 2011; 2 (6): 272–280.

Авторский коллектив

Богомолова Ирина Александровна – ассистент кафедры физиологии и патофизиологии медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: 73bogomolova@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3331-8632>.

Долгова Динара Ришатовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и патофизиологии медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: dolgova.dinara@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5475-7031>.

Антонеева Инна Ивановна – доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии и лучевой диагностики медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: aii72@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1525-2070>.

Генинг Татьяна Петровна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой физиологии и патофизиологии медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: Naum-53@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5117-1382>.

Кузнецова Татьяна Ивановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: tattkuznetsova@rambler.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0909-734X>.

Образец цитирования

Богомолова И.А., Долгова Д.Р., Антонеева И.И., Генинг Т.П., Кузнецова Т.И. Экспрессия васкулоэндотелиального и тромбоцитарного факторов роста в первичной опухоли колоректального рака как фактор прогноза раннего рецидива. Ульяновский медико-биологический журнал. 2020; 4: 74–86. DOI: 10.34014/2227-1848-2020-4-74-86.

EXPRESSION OF VASCULOENDOTHELIAL AND PLATE GROWTH FACTORS IN PRIMARY COLORECTAL TUMOR AS A PREDICTOR OF EARLY RECURRENCE

I.A. Bogomolova, D.R. Dolgova, I.I. Antoneeva, T.P. Gening, T.I. Kuznetsova

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia

The prognostic factors that determine colorectal cancer (CRC) treatment are disease status, tumor grade, microsatellite instability, invasion degree, and the index of proliferative activity. However, the assessment of the adjuvant chemotherapy in colorectal cancer does not imply the assessment of angiogenic factors in a primary tumor.

The aim of the paper is to evaluate the prognostic role of PDGFAA and VEGFA expression in tumor tissue of stages II/III colorectal cancers.

Materials and Methods. Paraffin blocks of primary CRC tumor (n=50) were used as study material. Immunohistochemistry (IHC) was used to examine the expression of vasculoendothelial and platelet growth factors and calculate IHC score in the tumor parenchyma and CRC stroma.

Results. According to IHC staining, CRC tumor expresses VEGFA and PDGFAA factors in 92 % of cases, in the resection line – in 37 % of the samples. There were no differences in VEGFA and PDGFAA expression in tumor parenchyma in CRC, depending on the process stage and grade degree. The cumulative risk of disease progression within a year after surgery in patients with stage II/III CRC with VEGFA+PDGFAA overexpression in the primary tumor is 4.9 times higher (CI 2.123–11.089, p=0.011) compared to the group of patients with reduced expression of the studied angiogenic factors.

Conclusions. The data obtained suggest that co-expression of angiogenic VEGFA and PDGFAA factors in the tumor may reflect the initial CRC regarding neoangiogenesis. If VEGFA and/or PDGFAA IHC score is more or equal to 6, the risk of disease recurrence within 1 year from the start of medical observation increases, which is an unfavorable prognostic factor.

Keywords: colorectal cancer, vasculoendothelial growth factor, platelet growth factor, adjuvant chemotherapy.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

References

1. Kaprina A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V., red. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2018 godu (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality)]. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena, filial FGBU «NMITs radiologii»; 2019. 236 (in Russian).
2. Fedyanin M.Yu. Ad'yuvantnaya terapiya bol'nykh rakom tolstoy kishki II stadii – trudnoe reshenie dlya khimioterapevta [Adjuvant therapy for stage II colon cancer as a challenge for chemotherapists]. *Zlokachestvennye opukholi*. 2019; 9 (3s1): 15–22 (in Russian).
3. Laurent-Puig P., Marisa L., Taieb J. Colon cancer molecular subtype intratumoral heterogeneity and its prognostic impact: An extensive molecular analysis of the PETACC-8. *Annals of Oncology*. 2018; 29 (suppl. 8): 60.
4. Bosman F.T., Carneiro F., Hruban R.H., Theise N.D. *WHO classification of tumors the digestive system*. Vol. 3. 4th Edition. Lyon; 2010. 417.
5. Roberta M., Manzat S., Balacescu L., Gherman C., Chira R.I., Craiu A., Mircea P.A., Lisencu C., Balacescu O. The Role of PDGFs and PDGFRs in Colorectal Cancer. *Mediators of Inflammation*. 2017; 2017: 4708076.
6. Jiang B., Chen J., Yuan W., Ji J., Liu Z., Wu L., Tang, Q., Shu X. Platelet-derived growth factor-D promotes colorectal cancer cell migration, invasion and proliferation by regulating Notch1 and matrix metalloproteinase-9. *Oncology Letters*. 2018; 15 (2): 1573–1579.
7. Kim M.S., Choi H.S., Wu M. Potential Role of PDGFR β -Associated THBS4 in Colorectal Cancer Development. *Cancers (Basel)*. 2020; 12 (9): 2533.
8. Chen J., Yuan W., Wu L., Tang Q., Xia Q., Ji J. PDGF-D promotes cell growth, aggressiveness, angiogenesis and EMT transformation of colorectal cancer by activation of Notch1/Twist1 pathway. *Oncotarget*. 2017; 8 (6): 9961–9973.
9. Olsen R.S., Dimberg J., Geffers R., Wågsäter D. Possible Role and Therapeutic Target of PDGF-D Signalling in Colorectal Cancer. *Cancer Invest*. 2019; 37 (2): 99–112.
10. Lindmark G., Sundberg C., Glimelius B., Pahlman L., Rubin K., Gerdin B. Stromal expression of platelet-derived growth factor beta-receptor and platelet-derived growth factor B-chain in colorectal cancer. *Lab. Invest*. 1993; 69 (6): 682–689.
11. Sundberg C., Ljungstrom M., Lindmark G., Gerdin B., Rubin K. Microvascular pericytes express platelet-derived growth factor-beta receptors in human healing wounds and colorectal adenocarcinoma. *Am. J. Pathol*. 1993; 143 (5): 1377–1388.
12. Fedyanin M.Yu., Gladkov O.A., Gordeev S.S., Rykov I.V., Tryakin A.A. Prakticheskie rekomendatsii po lekarstvennomu lecheniyu raka obodochnoy kishki i rektosigmoidnogo soedineniya [Practical guidelines for medical treatment of colon and rectosigmoid junction cancer]. *Zlokachestvennye opukholi*. 2019; 9 (3s2): 324–364 (in Russian).
13. Chibaudel B., Henriques J., Rakez M., Brenner B., Won Kim T., Martinez-Villacampa M., Gallego-Plazas J., Cervantes A., Shim K., Jonker D., Guerin-Meyer V., Mineur L., Banzi C., Dewdney A., Dejthevaporn T., Bloemendal H., Roth A., Moehler M., Aranda E., Cutsem E.V., Tabernero J., Schmoll H.-J., Hoff P., André T., de Gramont A. Association of Bevacizumab Plus Oxaliplatin-Based Chemotherapy With Disease-Free Survival and Overall Survival in Patients With Stage II Colon Cancer: A Secondary Analysis of the AVANT Trial. *JAMA Network Open*. 2020; 3 (10): e2020425.
14. Lizárraga-Verdugo E., Avendaño-Félix M., Bermúdez M., Ramos-Payán R., Pérez-Plasencia C. Cancer Stem Cells and Its Role in Angiogenesis and Vasculogenic Mimicry in Gastrointestinal Cancers. *Frontiers in oncology*. 2020; 10: 413.
15. Bhattacharya B., Fan F., Wang R., Ye X., Xia L., Boulbes D., Ellis M.L. Intracrine VEGF signalling mediates colorectal cancer cell migration and invasion. *Br. J. Cancer*. 2017; 117: 848–855.
16. Dinami R., Porru M., Amoreo C.A., Sperduti I., Mottolese M., Buglioni S., Marinelli D., Maugeri-Saccà M., Sacconi A., Blandino G., Leonetti C., Di Rocco G., Verdina A., Spinella F., Fiorentino F., Ciliberto G., Biroccio A., Zizza P. TRF2 and VEGF-A: an unknown relationship with prognostic impact on survival of colorectal cancer patients. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2020; 39: 111.
17. Medves S., Duhoux F., Ferrant A., Toffalini F., Ameye G., Libouton J.-M., Poirel H.A., Demoulin J.-B. KANK1, a candidate tumor suppressor gene, is fused to PDGFRB in an imatinib responsive myeloid neoplasm with severe thrombocytopenia. *Leukemia*. 2010; 24: 1052–1055.

18. Terris B., Scoazec J.Y., Rubbia L., Bregeaud L., Pepper M.S., Ruzniewski P., Belghiti J., Fléjou J., Degott C. Expression of vascular endothelial growth factor in digestive neuroendocrine tumours. *Histo-pathology*. 1998; 32: 133–138.
19. Kang S.M., Maeda K., Onoda N., Chung Y.S., Nakata B., Nishiguchi Y., Sowa M. Combined analysis of p53 and vascular endothelial growth factor expression in colorectal carcinoma for determination of tumor vascularity and liver metastasis. *Int. J. Cancer*. 1997; 74 (5): 502–507.
20. Zafirellis K., Agrogiannis G., Zachaki A., Gravani K., Karameris A., Kombouras C. Prognostic significance of VEGF expression evaluated by quantitative immunohistochemical analysis in colorectal cancer. *J. Surg. Res.* 2008; 147 (1): 99–107.
21. Des Guetz G., Uzzan B., Nicolas P., Cucherat M., Morere J.F., Benamouzig R., Breau J.-L., Perret G.-Y. Microvessel density and VEGF expression are prognostic factors in colorectal cancer. Meta-analysis of the literature. *Br. J. Cancer*. 2006; 94 (12): 1823–1832.
22. Lee J.C., Chow N.H., Wang S.T., Huang S.M. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in colorectal cancer patients. *Eur. J. Cancer*. 2000; 36 (6): 748–753.
23. Takahashi Y., Tucker S.L., Kitadai Y., Koura A.N., Bucana C.D., Cleary K.R., Ellis L.M. Vessel counts and expression of vascular endothelial growth factor as prognostic factors in node-negative colon cancer. *Arch. Surg.* 1997; 132 (5): 541–546.
24. Zheng S., Han M.Y., Xiao Z.X., Peng J.P., Dong Q. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression and neovascularization in colorectal carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2003; 9 (6): 1227–1230.
25. Zygon J., Szajewski M., Kruszewski W.J., Rzepko R. VEGF, Flt-1, and microvessel density in primary tumors as predictive factors of colorectal cancer prognosis. *Mol. Clin. Oncol.* 2017; 6 (2): 243–248.
26. Saad R.S., Liu Y.L., Nathan G., Celebrezze J., Medich D., Silverman J.F. Endoglin (CD105) and vascular endothelial growth factor as prognostic markers in colorectal cancer. *Mol. Pathol.* 2004; 17 (2): 197–203.
27. Martins S.F., Reis R.M., Rodrigues A.M., Baltazar F., Filho A.L. Role of endoglin and VEGF family expression in colorectal cancer prognosis and anti-angiogenic therapies. *World J. Clin. Oncol.* 2011; 2 (6): 272–280.

Received 19 August 2020; accepted 15 October 2020.

Information about the authors

Bogomolova Irina Aleksandrovna, Teaching Assistant, Chair of Physiology and Pathophysiology, Medical Department named after T.Z. Biktimirov, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: 73bogomolova@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3331-8632>.

Dolgova Dinara Rishatovna, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Physiology and Pathophysiology, Medical Department named after T.Z. Biktimirov, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: dolgova.dinara@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5475-7031>.

Antoneeva Inna Ivanovna, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Chair of Oncology and Radiation Diagnostics, Medical Department named after T.Z. Biktimirov, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: aii72@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1525-2070>.

Gening Tat'yana Petrovna, Doctor of Sciences (Biology), Professor, Head of the Chair of Physiology and Pathophysiology, Medical Department named after T.Z. Biktimirov, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: Naum-53@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5117-1382>.

Kuznetsova Tat'yana Ivanovna, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Morphology, Medical Department named after T.Z. Biktimirov, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: tattkuznetsova@rambler.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0909-734X>.

For citation

Bogomolova I.A., Dolgova D.R., Antoneeva I.I., Gening T.P., Kuznetsova T.I. Ekspressiya vaskuloendotelial'nogo i trombotsitarnogo faktorov rosta v pervichnoy opukholi kolorektal'nogo raka kak faktor prognoza rannego retsidiva [Expression of vasculoendothelial and platelet growth factors in primary colorectal tumors as a predictor of early recurrence]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal*. 2020; 4: 74–86. DOI: 10.34014/2227-1848-2020-4-74-86 (in Russian).