

VEGF w zespole jadłowstrętu i wyniszczenia nowotworowego chorych na raka płuca.

VEGF in the cancer anorexia-cachexia syndrome in patients with lung cancer.

Bożena Weryńska, Monika Kosacka, Marcin Gołdecki, Renata Jankowska

Z Katedry i Kliniki Pulmonologii i Nowotworów Płuc Akademii Medycznej we Wrocławiu

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Renata Jankowska

Summary: Cancer anorexia-cachexia syndrome (CACS) occurs in 30-80% of patients with cancer. CACS is connected with poor prognosis and higher risk of treatment complications. CACS belongs to the common cause of death in cancer patients. Main role in the development of this syndrome play cytokines like TNF, interleukin 1 and 6 and interferon α and γ . The importance of a lot of other substances is still unknown. VEGF promotes new vessels development, enhance vascular permeability and plays a role in inflammatory reaction. The aim of this study was comparison of VEGF levels in patients with lung cancer with and without CACS and in control group. The serum levels of VEGF were measured by ELISA method. The VEGF was significantly higher in patients with lung cancer than in control group ($p = 0.004$). There were no correlations between VEGF and weight lost, histological type and stage of disease. This suggest that VEGF doesn't play a role in development of CACS.

Pneumonol. Alergol. Pol. 2006, 74, 186:190

Key words: VEGF, Cancer anorexia-cachexia syndrome, lung cancer.

Wstęp

Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF-Vascular Endothelial Growth Factor) odgrywa istotną rolę w procesie angiogenezy zarówno w warunkach fizjologicznych jak i patologicznych. (3,4). Badania na embrionach myszy wykazały, że utrata pojedynczego allele powoduje upośledzenie angiogenezy i hematopoezy, doprowadzając do obumarcia płodu z reguły między 11 a 12 dniem. (5) W życiu pozapłodowym VEGF bierze udział między innymi w gojeniu się ran (18), regeneracji uszkodzonych komórek kłębuszków nerkowych (19) oraz wpływa na wzrost kości (6).

Bardzo dobrze została poznana rola VEGF w chorobach nowotworowych, w których jest to prawdopodobnie najczęściej opisywany czynnik proangiogeny (3,4,11,13,14,25,26). Tworzenie nowych naczyń stanowi ważny element w procesie karcinogenezy, umożliwia lepszy wzrost guza pierwotnego oraz powstawanie zmian przerzutowych (20).

Gen VEGF-u zlokalizowany jest u ludzi na chromosomie 6p21.3. (3) VEGF jest glikoproteiną o budowie dimerycznej i masie cząsteczkowej od 34 do 42 kDa. (3) Dotychczas zidentyfikowano 4 izoforny VEGF, które w zależności od długości łańcucha aminokwasów określa się jako VEGF 121, VEGF 165, VEGF 189 i VEGF 206. (4)

VEGF wywiera mitogeny i chemotaktyczny wpływ na komórki śródbłonka, przez co przyczynia się do wzrostu gęstości naczyń krwionośnych w otoczeniu guza. (1,3,4,26).

Zespół jadłowstrętu i wyniszczenia nowotworowego (cancer anorexia-cachexia syndrome: CACS) należy do najczęstszych przyczyn zgonu chorych na nowotwory złośliwe; w chwili śmierci stwierdza się go u 80% chorych z tej grupy (17). Do jego najistotniejszych konsekwencji klinicznych należą: zwiększenie ryzyka powikłań leczenia chirurgicznego, chemioterapii i radioterapii oraz skrócenie czasu przeżycia (12). Podobieństwo zaburzeń metabolicznych obserwowanych u chorych z CACS do obserwowanych w chorobach infekcyjnych skierowało uwagę na reakcję zapalną i rolę cytokin w patogenezie wyniszczenia. Potwierdzeniem takiej analogii było odkrycie, że poznany wcześniej czynnik kataboliczny – kachektyna jest identyczny z czynnikiem martwicy guza (tumor necrosis factor – TNF) – cytokiną uwalnianą przez makrofagi gospodarza w odpowiedzi na infekcję, guz nowotworowy i inne uszkodzenia tkanek. Znaczącą rolę w powstawaniu CACS przypisuje się leptynie i niektórym cytokinom: interleukinie-1 (Il-1), interleukinie-6 (Il-6) oraz interferonowi α i β . (12,15,23,24).

W mniejszym stopniu poznano rolę innych substancji w rozwoju w zespole jadłowstrętu i wyniszczenia nowotworowego, takich jak interleukina-10

(II-10), TGF β (transforming growth factor) i VEGF (vascular endothelial growth factor) (2, 8, 13).

Celem pracy była ocena stężeń w surowicy VEGF u chorych na raka płuca, zarówno z zespołem wyniszczenia nowotworowego jak i bez oraz w grupie kontrolnej.

Materiał i metody

Do badania zakwalifikowano 40 chorych na raka płuca (25 mężczyzn, 15 kobiet), w wieku od 50-75 lat (średnia 61). Kryterium rozpoznania choroby było badanie histopatologiczne. W grupie badanej znalazło się 20 z wyniszczeniem nowotworowym i 20 bez wyniszczenia. Do grupy chorych z wyniszczeniem nowotworowym były kwalifikowane osoby, u których w ciągu 3 miesięcy przed postawieniem diagnozy wystąpił ubytek masy ciała o co najmniej 10%. Stan odżywienia chorych był oceniany na podstawie: 1. wskaźnika masy ciała (BMI), 2. parametrów antropometrycznych: a) obwód ramienia (dla mężczyzn powinien wynosić > 23 cm, a dla kobiet > 22 cm) b) grubość fałdu skórno-mięśniowego nad mięśniami trójgłowym ramienia (dla mężczyzn > 10 mm, dla kobiet > 13mm). U wszystkich chorych określony był stopień zaawansowania raka płuc wg skali TNM, stopień sprawności wg 4-stopniowej skali WHO.

W grupie chorych bez CACS znalazło się 10 mężczyzn oraz 10 kobiet, w tym 16 chorych na raka niedrobnokomórkowego (NDRP) oraz 4 chorych na raka drobnokomórkowego (DRP). Z 16 chorych na NDRP, 3 pacjentów miało stadium zaawansowania choroby III A, 5 chorych – IIIB, 8 chorych – IV. Spośród 4 chorych na DRP 3 osoby miały ograniczoną postać.

Wg skali WHO u jednego chorego stwierdzono 0 stopień sprawności, u 9 chorych I stopień, u 7 osób II stopień oraz u 3 chorych III stopień sprawności.

W grupie chorych z CACS było 15 mężczyzn oraz 5 kobiet, w tym 17 chorych na NDRP oraz 3 chorych na DRP.

Z 17 chorych na NDRP, 3 pacjentów miało stadium zaawansowania choroby IIIA, 8 chorych – IIIB, 6 chorych – IV. Spośród 3 chorych na DRP 1 osoba miała ograniczoną postać choroby oraz 2.

Wg skali WHO u 1 chorego obserwowano 0 stopień sprawności, u 9 chorych I stopień, u 5 osób II stopień oraz u 5 chorych III stopień sprawności.

W grupie kontrolnej znalazło się 15 zdrowych osób (10 mężczyzn i 5 kobiet) w wieku od 28 do 77 lat (średnia 44).

Krew pobierana była przed wdrożeniem leczenia onkologicznego. Poziom VEGF oznaczono metodą metodą immunoenzymatyczną ELISA.

Analizę statystyczną przy porównywaniu badanych grup przeprowadzono wykorzystując program komputerowy CSS Statistica for Windows, wersja 6. 0. Zastosowano test Chi-kwadrat – najbardziej rozpowszechniony test istotności dla zmiennych jakościowych. Wartość statystyki chi-kwadrat i poziom jej istotności zależy od całkowitej liczby obserwacji. Przybliżenie statystyki Chi-kwadrat w tabelach o małych liczebnościach poprawiono przez zmniejszenie bezwzględnej wartości różnic pomiędzy liczebnościami oczekiwanymi i zaobserwowanymi o wartość 0. 5 przed podniesieniem do kwadratu (poprawka Yatesa). Dla opisu poszczególnych grup zastosowano statystykę opisową z użyciem między innymi średniej i odchylenia standardowego. Za znaczące uznawano różnice pomiędzy grupami gdy prawdopodobieństwo było $p < 0,05$.

Wyniki

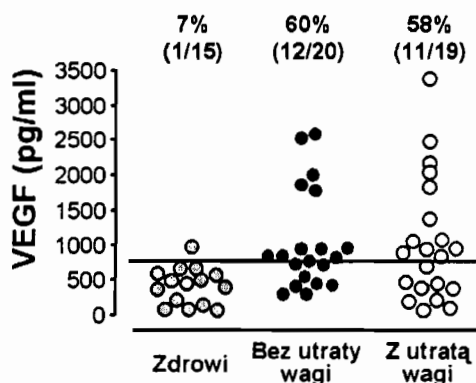
Dane pacjentów jak i zdrowych osób z grupy kontrolnej, takie parametry jak waga, BMI, obwód ramienia, grubość fałdu oraz poziomy VEGF przedstawiono w tabeli 1. Pomiar I dotyczy danych na 3 miesiące przed ustaleniem rozpoznania, a pomiar II w chwili rozpoznania.

Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie między stężeniem VEGF u pacjentów z CACS i bez. (Ryc. 1A)

Wykazano natomiast, że poziom VEGF był istotnie wyższy w surowicach chorych na raka płuca (chorzy bez utraty wagi: $p = 0. 004$, χ^2 skoryg. Yatesa: 8. 28; chorzy z utratą wagi: $p = 0. 006$, χ^2 z korekcją Yatesa: 7. 52).

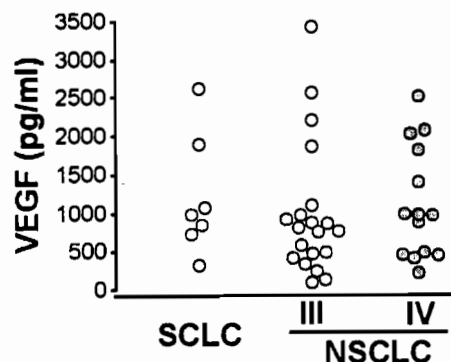
Podwyższony poziom VEGF nie był związany ani z typem histologicznym nowotworu (DRP vs NDRP), ani z jego stopniem zaawansowania. (Ryc. 1 b).

Przeanalizowano też wpływ zmiany masy ciała (%) na stężenie VEGF w surowicy (Ryc. 1c)



Ryc. 1A. Stężenia VEGF w surowicy u osób zdrowych chorych na raka płuca.

Ryc. 1A. Serum levels of VEGF in control group and patients with lung cancer.



Ryc. 1B. Stężenia VEGF w zależności od typu raka i zaawansowania NDRP.

Ryc. 1B. Correlation between serum level of VEGF and histological type of lung cancer and between stage in patients with NSCLC.

Tabela 1 Charakterystyka chorych na raka płuca i grupy kontrolnej

Table 1. Characteristic of patients with lung cancer and control group

A. z rakiem płuca bez utraty wagi (with lung cancer without weight lost)

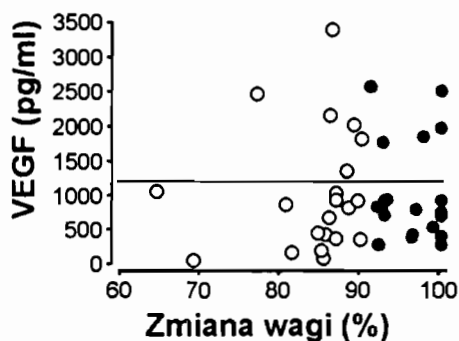
B. z rakiem płuca z utratą wagi (with CASC)

C. grupy kontrolnej (control group)

A		N	Średnia	mediana	minimum	maximum	SD	SEM
Wiek (lata)		20	61	59	50	75	8	2
Waga (kg)	Pomiar I	20	77	73	55	107	13	3
	Pomiar II	20	74	70	55	107	14	3
	Zmiana (%)*	20	96	97	91	100	3	1
BMI	Pomiar I	20	27	28	20	36	4	1
	Pomiar II	20	26	27	20	36	4	1
	Zmiana (%)*	20	96	97	92	100	3	1
Ramię (cm)		20	29	29	23	9	4	1
Fałd (cm)		20	2	2	1	3	1	0
VEGF (pg/ml)		20	1061	853	313	2615	715	160
B		N	Średnia	mediana	minimum	maximum	SD	SEM
Wiek (lata)		20	57	56	42	83	11,5	2,5
Waga (kg)	Pomiar I	20	76	68	50	119	20,2	4,4
	Pomiar II	20	64	57	43	107	19,2	4,2
	Zmiana (%)*	20	84	86	65	90	6,6	1,4
BMI	Pomiar I	20	27	25	18	39	5,5	1,2
	Pomiar II	20	22	21	16	33	4,5	1,0
	Zmiana (%)*	20	84	86	65	90	6,6	1,4
Ramię (cm)		20	24	23	19	33	3,7	0,8
Fałd (cm)		20	1,3	1,2	0,7	2,4	0,5	0,1
VEGF (pg/ml)		20	1066	906	81	3425	888,0	193,8
C		N	Średnia	mediana	minimum	maximum	SD	SEM
Wiek (lata)		15	44	36	28	77	16,5	4,3
Waga (kg)		15	73	76	55	100	13,9	3,6
BMI		15	24	23	19	31	4,0	1,0
Ramię		15	28	28	24	35	2,9	0,8
Fałd		15	2,0	1,9	1,5	2,5	0,3	0,1
VEGF (pg/ml)		15	431	464	75	997	266	68

SD – błąd standardowy (z ang. Standard Deviation)

SEM – odchylenie standardowe średniej (z ang. Standard Error Mean)



Ryc. 1C. Korelacja między poziomem VEGF a zmianą wagi u chorych na raka płuca.

Ryc. 1C. Correlation between serum level of VEGF and weight change in patients with lung cancer.

Omówienie.

Zainteresowanie zespołem jadłowstrętu i wyniszczenia nowotworowego wynika z poważnych konsekwencji klinicznych, jakie powoduje, a także z rozpowszechnienia tego zespołu. W zależności od źródeł podaje się, że rozwija się on u 30-80% chorych. (22,23,24)

Badanie objęło chorych z rakiem płuca, który jest w Polsce najczęściej występującym nowotworem złośliwym u mężczyzn i drugim co do częstości występowania u kobiet po raku sutka. (7)

Porównano poziom VEGF w dwóch grupach chorych: z wyniszczeniem nowotworowym i bez, które były zbliżone pod względem wiekowym, rozkładu płci i częstości występowania poszczególnych typów histologicznych raka płuca. W obu grupach znaleźli się chorzy z rakiem niedrobnokomórkowym w wyższych stadiach zaawansowania (IIIA-IV). Nie było natomiast chorych w stadiach I-II. Podwyższa to dodatkowo jakość dokonanej analizy.

Biorąc pod uwagę, iż w patogenezie zespołu wyniszczenia nowotworowego odgrywa rolę reakcja zapalna, postanowiliśmy zbadać znaczenie VEGF, substancji o których wiadomo, że związana jest z procesem zapalnym (3,16,27), ale nie była dotychczas przedmiotem badań w CACS.

Oprócz dobrze poznanej i opisananej roli VEGF w procesie angiogenezy, zwrócono uwagę w ostatnich latach na znaczenie tego czynnika w reakcji zapalnej. (3,16,26,27)

Wykazano, że VEGF bierze udział w modulacji odpowiedzi immunologicznej (26) i może podtrzymywać przewlekłą reakcję zapalną. Powoduje mię-

dzy innymi aktywację monocytów, zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych i hamuje dojrzewanie komórek dendrytycznych. (3,16,26,27)

Obecnie podejmuje się próby oceny znaczenia VEGF w patogenezie wielu schorzeń o różnej etiologii, między innymi w reumatoidalnym zapaleniu stawów, łuszczycy(3), przewlekłym zapaleniu wątroby typu C (10), sarkoidozie (16,21), nadciśnieniu płucnym, rozedmie (28) czy w gruźlicy (11). W dostępnej nam literaturze nie znaleziono jednak publikacji na ten temat VEGF w zespole wyniszczenia nowotworowego.

W przeprowadzonych badaniach obserwowano wyraźnie podwyższony VEGF u pacjentów z rakiem płuca. Jest to zgodne z doniesieniami z literatury. Trape i wsp. wykazali znamienne podwyższony VEGF w raku płuca w porównaniu do osób zdrowych, ale także w odniesieniu do pacjentów z chorobami obturacyjnymi (POCHP i astmą oskrzelową) (27). W naszym badaniu przeważali chorzy w wysokim stopniu zaawansowania, co z pewnością dodatkowo przyczyniło się do pogłębienia różnicy między grupą kontrolną osób zdrowych a pacjentami z rakiem.

Nie stwierdziliśmy zależności między poziomem VEGF a stopniem zaawansowania. Doniesienia ten temat są sprzeczne. Część badaczy wskazuje na wyraźną korelację stężenia VEGF ze stopniem zaawansowania (13,14) natomiast inni nie potwierdzają takiej zależności (27,29) Dodatkowo brak takiej korelacji w naszym badaniu może wynikać z faktu, że badaliśmy prawie jednorodną grupę pod względem stopnia zaawansowania.

Podobnie jak wykonanej przez nas pracy w większości doniesień nie odnotowano różnic w poziomie VEGF w poszczególnych typach histopatologicznych raka płuca (13,17,28).

Wnioski:

1. U chorych na raka płuca stwierdza się wyraźnie podwyższony poziom VEGF w surowicy.
2. VEGF nie odgrywa prawdopodobnie roli w patogenezie zespołu wyniszczenia nowotworowego.
3. Poziom VEGF nie koreluje ze stopniem zaawansowania ani z typem histologicznym w raku niedrobnokomórkowym płuca.

Piśmiennictwo.

1. Cheng D. i wsp. : Vascular Endothelial Growth Factor level correlates with Transforming Growth Factor beta isoform levels in pleural effusions. *Chest* 2000, 118:1747-1753
2. De Vita F. i wsp. Serum Il-10 levels as prognostic factor of advanced small cell lung cancer. *Chest* 2000;117:365-373.
3. Ferrara, N. : Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 2004;25(4): 581-611
4. Ferrara, N. : Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. *Recent Prog Horm Res* 2000,55.
5. Ferrara N., Carver-Moore K., Chen H. i wsp.: Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996,4,380:439-42
6. Gerber HP., Vu TH., i wsp. : VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nat Med* 1999,5,623-8.
7. Grzelewska-Rzymowska I., Kordek R., Tymieńska K., Kusińska R. :Epidemiologia raka płuca, red. Grzelewska-Rzymowska I. :Rak płuca, Łódź 2003,17-27.
8. Hasegawa Y. i wsp. TGF- β 1 level correlates with angiogenesis, tumor progression and prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer*, 2001, 91:964-971.
9. Hatanaka H i wsp. : Significant correlation between interleukin 10 expression and vascularization through angiopoietin/TIE2 networks in non-small cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.* 2001 7(5),1287-92.
10. Janczewska-Kazek E., i wsp.: Effect of interferon alpha and ribavirin treatment on serum levels of transforming growth factor, vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2006,12. 961-965.
11. Jankowska R., Porębska I., Dyła T.: Ocena stężenia naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu w wysiękach opłucnowych pochodzenia nowotworowego i gruźliczego – wyniki wstępne. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2002, 70, 259-64
12. Jarosz J. Wyniszczenie nowotworowe. *Medipress Med. Paliat* 2002;1:3-8.
13. Mall J. W. i wsp. Serum VEGF levels correlate better with tumor stage in small cell lung cancer than albumin, neuron specific enolase or lactate dehydrogenase. *Respirology* 2002;7: 99-102.
14. Matsuama W. i wsp. : Serum level of Vascular Endothelial Growth Factor on stage progression of lung cancer. *Chest*, 2000, 118, 948-951.
15. Matthys P. i wsp. Cytokines and cancer cachexia. *Nutrition.* 1997;13:763-700.
16. Morohashi K i wsp. : Vascular Endothelial Growth Factor Gene polymorphisms in Japanese patients with sarcoidosis, *Chest* 2003, 123,1520-1526.
17. Nelson K. A. The cancer anorexia-cachexia syndrome. *Semin Oncol* 2000;27:64-68.
18. Nissen NN., i wsp.: Vascular Endothelial Growth Factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol* 1998,152(6):1445-52.
19. Ostendorf T., i wsp.: VEGF 165 mediates glomerular endothelial repair. *J. Clin Invest* 1999,104,913-923.
20. Porębska I., Jankowska R. : Angiogeneza w niedrobnokomórkowym raku płuca – implikacje kliniczne. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2001, 69, 311-317
21. Porębska I., Jankowska R., Piesiak P., Dyła T., Szeliga W. : Analiza VEGF i IL-8 w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych i w surowicy chorych na sarkoidozę *Adv Clin Exp Med.* 2004, 13, 555-560
22. Puccio M. Nathanson. : The cancer cachexia syndrome. *Semin Oncol* 1997,24,277-287.
23. Radzikowska E. : Leczenie zespołu wyniszczenia w przebiegu raka płuca. *Pneumonol Alergol Pol* 1999,67,70-75.
24. Rucińska M. i wsp. Zespół wyniszczenia nowotworowego. *Nowotwory.* 1999;1:53-62.
25. Sheng h i wsp. : Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in primary lung carcinoma. *Acta Med. Okayama* 2000,54, 119-26.
26. Strauss L., Volland D., Kunkel M., Reichert TR.: Dual role of VEGF family members in the pathogenesis of head and neck cancer (HNSCC): possible link between angiogenesis and immune tolerance. *Med Sci Monit* 2005,11:280-92
27. Trape J., Buxo J., Olague JP. : Serum concentrations of vascular Endothelial Growth Factor in advanced non-small cell lung cancer. *Clinical Chemistry* 2003, 49,523-525
28. Voelkel NF., Vandivier RW., Tuder RM. : Vascular Endothelial Growth Factor in the lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006,290,209-21.
29. Zhao J i wsp. : Plasma level and prognostic significance of VEGF, bFGF and MMP-9 in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2005; 27: 676-9.

Wysłane do druku 30. 03. 2006.
Katedra i Klinika Pulmonologii i Nowotworów Płuc
53-439 Wrocław, ul. Grabiszyńska 105.