

ID: 2016-08-25-A-6603

Оригинальная статья

Понамарев И.Р., Коршунов Г.В., Пучиньян Д.М., Павленко Н.Н., Шахмартова С.Г., Гладкова Е.В.

Дисфункция эндотелия при новообразованиях опорно-двигательной системы

ФГБУ СарНИИТО Минздрава России, г. Саратов

Ponamarev I.R., Korshunov G.W., Puchinyan D.M., Pawlenko N.N., Shahmartowa S.G., Gladkova E.W.

Endothelial dysfunction in neoplastic disease of the locomotor system

Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics

Abstract

In this article some calculations of quantitative content of neopterin, tumour necrosis factor (TNF- α) and vessel endothelium functional status markers – soluble molecules of intercellular adhesion (sICAM-1), adhesion molecules of vessel endothelium (sVCAM-1), vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with benign and malignant skeletal neoplasms are given. The results show that neopterin, sVCAM-1 and TNF- α quantitative changes are presented in both patient groups but in case of malignant process these changes are significantly more expressed compared with the benign figures. Thus endothelial dysfunction is claimed to be one of the risk factors for thrombus complications in the abovementioned patient group.

Keywords: skeletal neoplasms, endothelial dysfunction markers

Ключевые слова: эндотелий, новообразования опорно-двигательной системы

Дисфункция эндотелия является одним из универсальных механизмов развития многих патологических процессов и заболеваний, в том числе таких распространенных, как атеросклероз, гипертоническая болезнь, сахарный диабет. Дисфункция эндотелия играет важную роль в развитии тромбоза, неоангиогенеза, ремоделирования сосудов, внутрисосудистой активации тромбоцитов и лейкоцитов, увеличении проницаемости сосудов и т. д. [1,2].

По современным представлениям, эндотелий — не просто полупроницаемая мембрана обеспечивающая несмачиваемость сосуда, а активный эндокринный орган, самый большой в теле, диффузно рассеянный по всем тканям. Многообразные функции эндотелия реализуются за счет продуцирования и секретирования в кровотоки различных биологически активных веществ. (3,4)

Оценка функционального состояния сосудистой стенки у онкологических больных, в частности, с новообразованиями костной и хрящевой тканями, может явиться, с одной стороны, важным дополнительным дифференциальным критерием между злокачественными и доброкачественными опухолями, с другой, – в связи с высоким риском развития тромботических осложнений у данной категории пациентов – фактором, определяющим высокий тромбогенный потенциал системы гемостаза.

Целью исследования было изучение функционального состояния эндотелия при новообразованиях опорно-двигательной системы.

Материал и методы

Обследовано 115 больных с доброкачественными (гигантоклеточной опухолью, костной кистой, фиброзной дисплазией, хондромой, косто-хрящевым экзостозом) и 45 – злокачественными (метастатическим поражением костей, солитарной миеломой, остеогенной саркомой, хондросаркомой) новообразованиями опорно-двигательной системы без клинических признаков тромбоза глубоких вен нижних конечностей, а также 20 практически здоровых лиц. Определяли содержание неоптерина (нмол/мл), фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF, пг/мл), молекул межклеточной адгезии 1-го типа (sICAM-1, нг/мл) и адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа (sVCAM-1, нг/мл), фактора некроза опухолей (ФНО, пг/мл) в сыворотке крови больных методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов «Bender MedSystems» (Австрия), предназначенных только для исследовательских целей, и анализатора «Anthos 2020» (Австрия). Образцы сыворотки крови хранили при температуре ниже -20°C, однократно размораживали, разбавляли изотоническим раствором хлорида натрия и помещали в лунки микропланшета, покрытые мышинными моноклональными антителами против соответствующих человеческих маркеров. Количество маркеров рассчитывали в 1 мл сыворотки по калибровочной кривой.

Верификацию новообразований опорно-двигательной системы проводили с использованием клинических, лучевых (рентгенографических, магнитно-резонансных и компьютерно-томографических) способов обследования, гистоморфологических методов исследований.

При статистической обработке численных данных применяли пакет программ Statistica, версии 10,0. После проверки количественных показателей на нормальность распределения вариационных рядов по Shapiro–Wilk сравнительный анализ результатов исследования осуществляли методом вариационной статистики для независимых выборок с вычислением t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде средней арифметической (M), ошибки средней ($\pm m$), уровня значимости различия (P). Статистически значимыми считали различия при уровне $P < 0,05$.

Результаты

Результаты определения содержания маркеров функции эндотелия представлены в таблице. При доброкачественных новообразованиях уровень неоптерина в крови в 2,6 раза, а при злокачественных – в 5,2 раза оказался выше, чем у практически здоровых лиц. Следует отметить, что при злокачественном процессе содержание интегративного показателя клеточного иммунитета было в 2 раза больше, чем при доброкачественном.

Содержание маркера VEGF не отличалось при доброкачественных новообразованиях от нормальных величин ($25,4 \pm 1,5$ пг/мл) и было на 8% меньше при злокачественных новообразованиях.

Отмечено снижение содержания молекул межклеточной адгезии при доброкачественных новообразованиях на 14%, при злокачественных - на 22% по сравнению с группой практически здоровых лиц. Однако эти различия оказались недостоверными.

При злокачественном ($P_1 < 0,001$) и доброкачественном ($P_1 < 0,001$) процессах уровень молекул адгезии сосудистого эндотелия был меньше показателя контрольной группы на 30% ($P_1 < 0,001$); при этом концентрация sVCAM-1 в сыворотке крови не зависела от типа патологического процесса ($P_2 > 0,05$).

Уровень ФНО в сыворотке крови больных с доброкачественными новообразованиями опорно-двигательного аппарата был повышен в 18 раз ($P_1 < 0,001$), а со злокачественными – в 28 раз по сравнению с его содержанием у практически здоровых лиц ($P_1 < 0,001$). Установлено, что достоверная разница существует и между его содержанием при доброкачественном и злокачественном процессах ($P_2 < 0,001$).

Обсуждение

К селективным маркерам эндотелиальной дисфункции, в частности, относят фактор некроза опухоли (ФНО), сосудистый эндотелиальный фактора роста (VEGF), индуцибельные адгезионные молекулы – межклеточной (sICAM-1) и сосудистоклеточной адгезии (sVCAM-1) [7].

Неоптерин – интегральный показатель активности клеточного иммунитета, рядом авторов рассматривается в качестве суррогатного биомаркера для клинической оценки сосудистых повреждений и дисфункции эндотелия [1, 5] и маркером функционального состояния моноцитарно-макрофагального звена иммунной системы [6, 8]. Этот показатель клеточного иммунитета использован для неспецифического лабораторного мониторинга прогрессирования и/или распространения рака [5], в том числе при новообразованиях костной системы [9]. Повышенный уровень неоптерина в сыворотке крови у больных с опухолевыми процессами отражает активацию клеточного иммунитета и одновременно косвенно указывает на наличие эндотелиальной дисфункции, он может быть использован для дифференциальной диагностики характера опухолевого процесса [6].

Клетки некоторых видов опухолей продуцируют VEGF, тем самым способствуя активации процесса неоваскуляризации новообразования [10]. Этот ростовой фактор поддерживает жизнеспособность эндотелиоцитов, защищая клетки от апоптоза, индуцированного ФНО [11]. VEGF экспрессируется преимущественно опухолевыми клетками и в меньшей степени клетками окружающих тканей, мигрирующими макрофагами, фибробластами и эндотелиальными клетками. VEGF способствует развитию и прогрессированию опухолей и коррелирует со степенью их злокачественности. Уровень VEGF может служить важным и достоверным маркером в оценке риска повторных рецидивов при различных новообразованиях [11]. Однако в наших исследованиях содержание VEGF при костных новообразованиях находилось в пределах референтных величин, что, возможно, является особенностью опухолевых процессов костной системы.

Жизнеспособность эндотелиоцитов поддерживает сосудистый эндотелиальный фактора роста (VEGF), защищая клетки от апоптоза, индуцированного ФНО; он же стимулирует экспрессию молекул адгезии (E-selectin, sICAM-1, sVCAM-1) [4].

Молекулы sICAM-1 и sVCAM-1 экспрессируются на эндотелии под влиянием медиаторов воспаления, цитокинов, а также тромбина. Поскольку процессы воспаления и коагуляции тесно связаны между собой, повреждение эндотелия приводит к нарушению регуляции коагуляционного каскада и снижению антикоагулянтной активности эндотелиоцитов. Снижение тромборезистентности сосудистой стенки ведёт к избыточному образованию тромбина, который, в свою очередь, индуцирует экспрессию клеточных молекул адгезии и поддерживает воспаление, а также неопластический процесс [11]. В нашей работе обнаружены нормальные значения ICAM-1 как у больных со злокачественными, так и доброкачественными новообразованиями костной ткани. Вероятно, эти различия могут быть объяснены особенностями роста новообразований в костной ткани.

Авторы [12, 13, 14, 15] указывают на повышенные уровни молекул адгезии при разной локализации опухолей у человека, в том числе и в костной ткани [15, 16]. В наших исследованиях содержание sVCAM-1 в сыворотке крови при новообразованиях костной ткани оказался ниже, чем в контрольной группе. Обнаруженное отсутствие различий в содержании этого маркера между группами больных с доброкачественными и злокачественными опухолями соответствует данным, представленным в работе [15].

Таблица 1. Содержание маркеров функции эндотелия в сыворотке крови у больных с новообразованиями опорно-двигательной системы

Маркеры функции эндотелия	Контроль (n=20)	Доброкачественные новообразования (n=115)	Злокачественные новообразования (n=45)
Неоптерин, моль/мл	$3,8 \pm 1,9$	$9,8 \pm 1,8$ $P_1 < 0,05$	$19,7 \pm 2,1$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
VEGF, пг/мл	$25,4 \pm 0,8$	$24,9 \pm 0,5$ $P_1 > 0,05$	$23,3 \pm 0,9$ $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$
sICAM-1, нг/мл	$254,2 \pm 30,8$	$219,2 \pm 23,9$ $P_1 > 0,05$	$198,2 \pm 22,6$ $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$
sVCAM-1, нг/мл	$1018 \pm 15,2$	$694 \pm 13,4$ $P_1 < 0,001$	$718 \pm 15,6$ $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$
ФНО, пг/мл	$1,5 \pm 0,6$	$27,5 \pm 1,2$ $P_1 < 0,001$	$41,8 \pm 1,1$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$

Примечание: P_1 – достоверность по отношению к контрольным данным; P_2 – достоверность по отношению к данным при доброкачественных процессах

У пациентов с доброкачественным и злокачественным опухолевыми процессами костной ткани уровень ФНО оказался существенно выше нормы, в то же время у больных со злокачественными новообразованиями его содержание значительно превышало таковое у больных с доброкачественной метаплазией, что соответствует данным, представленным в работе [13]. Результаты исследования свидетельствуют о возможности использования количественного определения ФНО для дифференциальной диагностики доброкачественности и злокачественности опухолей кости. Фактор некроза опухоли и сосудистый эндотелиальный фактор роста регулируют прокоагулянтную активность тканевого фактора системы гемостаза, что может способствовать развитию системной гиперкоагуляции, свойственной многим раковым пациентам [16]. Возможно, в наших наблюдениях низкий уровень sVCAM-1 и тенденция к снижению sICAM-1 являются адаптационным ответом организма на повышенное содержание ФНО и неоптерина, что в какой-то степени снижает тромбогенный потенциал крови.

Заключение

Следовательно, проявление эндотелиальной дисфункции при новообразованиях опорно-двигательной системы характеризуется разнонаправленными изменениями маркеров эндотелиальной функции: увеличением содержания в крови неоптерина и ФНО, снижением уровней sVCAM. Количественных изменений VEGF и sICAM практически не наблюдается. Следует отметить, что при злокачественных новообразованиях костной ткани уровни неоптерина и ФНО существенно выше, чем при доброкачественном. Этот факт может найти применение в дифференциальной диагностике форм неопластического процесса [17].

Литература

1. Петрищев Н.Н., Васина Л.В., Власов Т.Д. и др. Типовые формы дисфункции эндотелия // Клинико-лабораторный консилиум. – 2007. – № 18. – С.31-36.
2. Жаринова В.Ю. Эндотелиальная дисфункция как мультидисциплинарная проблема // Кровообращение и гемостаз. - 2015 - №1-2.- С. 9-15.
3. Durand M.J., Gutterman D.D. Diversity in mechanisms of endothelium-dependent vasodilatation in health and disease // Microcirculation. – 2013. – V.20, № 3. - P.239-247.
4. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и при патологии. – Чита: Экспресс-издательство, 2010. – 832 с
5. Zhang Y.Y., Tong X.Z., Xia W.H. et al. Increased plasma neopterin levels are associated with reduced endothelial function and arterial elasticity in hypertension // J. Hum. Hypertens. – 2015. – Jul 23. doi: 10.1038/jhh.2015.72.
6. Павленко Н.Н., Коршунов Г.В., Т.Н.Попова и др. Метастатическое поражение костной ткани// Сибирский онкологический журнал, 2011, №4, с. 47-49.
7. Петрищев Н. Н. Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции/ под. ред. Н. Н. Петрищева. – СПб.: ИИЦ ВМА, 2007. – 296 с.: ил
8. Кушлинский Н.Е., Немцова М.В. Молекулярно-биологические характеристики злокачественных новообразований // Вестник РАМН. – 2014, № 1-2. – С. 5-15.
9. Чехонин В.П., Шейн С.А., Корчагина А.А., Гурина О.И. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза // Вестник РАМН. – 2012. – № 2. – С.23-33.
10. Бабкина И.В., Руссо Е.Ю., Соловьев Ю.Н. и др. Содержание растворимой формы молекулы адгезии эндотелия сосудов 1-го типа (sVCAM-1) в сыворотке крови больных с новообразованиями костей // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – 2012. – №1. – С.52-54.
11. Бабкина И.Н., Кузнецов Ю.Н., Соловьев У.Ю. и др. Факторы ангиогенеза в сыворотке крови при опухолях костей // Клини. лаб. диагностика. – 2013. – № 10. – С.31-33.
12. Li L., Li P., Yang Y.Q. et al. sCD40L, sP-selectin and sICAM-1 plasma levels in nasopharyngeal carcinoma // Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. – 2009. – Vol.40, № 3. – 513-516.
13. Gogali A., Charalabopoulos K., Zampira I. et al. Soluble adhesion molecules E-cadherin, intercellular adhesion molecule-1, and E-selectin as lung cancer biomarkers // Chest. – 2010. – Vol.138, № 5. – P.1173-1179.
14. Gu X., Ma C., Yuan D., Song Y. Circulating soluble intercellular adhesion molecule-1 in lung cancer: a systematic review // Transl. Lung Cancer Res. – 2012. – Vol.1, № 1. – P.36-44.
15. Dymicka-Piekarska V., Guzinska-Ustymowicz K., Kuklinski A., Kemona H. Prognostic significance of adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) and VEGF in colorectal cancer patients // Thromb. Res. – 2012. – Vol.129, № 4. – P.e47-50.
16. Knigsbrgge O., Pabinger I., Ay C. Risk factors for venous thromboembolism in cancer: novel findings from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS) // Thromb. Res. – 2014. – Vol. 133, Suppl.2. – S.39–43.
17. Коршунов Г.В., Павленко Н.Н. Пучиньян Д.М. и др. Операционные характеристики способов дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований костной системы // Клини. лаб. диагностика. – 2014. – Т. 59, № 6. – С.11-13.