

Э. А. ПОВЕЛИЦА, Э. А. НАДЫРОВ

**ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА I (IGF1) И БЕЛКА-ПЕРЕНОСЧИКА (IGFBP3) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМИ ФОРМАМИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ***Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека,  
Гомель, Беларусь**(Поступила в редакцию 11.02.2008)*

**Введение.** Изучение молекулярно-биологических маркеров рака предстательной железы (РПЖ), характеризующих пролиферацию, апоптоз, инвазивно-метастатические свойства опухоли, позволяет получить объективную информацию о молекулярном фенотипе опухоли, что в свою очередь дает возможность проводить лечение по индивидуальной схеме и прогнозировать развитие заболевания. Одним из направлений молекулярной диагностики является выявление и определение так называемых маркеров неблагоприятного прогноза развития РПЖ.

Во всех органах и тканях факторы роста вырабатываются неспециализированными клетками стромы и эпителия по ауто-, эндо-, интрапаракринному типу [1, 2]. В настоящий момент доказано, что факторы роста участвуют в регуляции процессов пролиферации и апоптоза в нормальной ткани предстательной железы (ПЖ), а также при развитии РПЖ [3–6].

Одним из основных факторов роста в ПЖ, ответственных за пролиферацию и деление клеток эпителия, является инсулиноподобный фактор роста IGF [1, 2, 6]. IGF, или соматомедин, представляет собой полипептид из 70 аминокислот, обладающий инсулиноподобной активностью. Стромальные клетки являются главным источником инсулиноподобных факторов роста в ПЖ, и посредством выработки последних осуществляется паракринная регуляция пролиферации эпителиальных клеток. Одновременно с выработкой IGF эпителиальными клетками ПЖ возникают диспластические процессы и развивается РПЖ. В ткани ПЖ IGF способен усиливать локальное действие андрогенов. В случае абляции последних преодоление гормонозависимости происходит за счет связывания рецепторов андрогенов, в частности, с IGF [6–8].

IGF способен ингибировать апоптоз клеток ПЖ. При угнетении синтеза IGF или блокаде его рецепторов моноклональными антителами тормозится размножение клеток РПЖ [8]. Существуют подвиды IGF1 и IGF2, а кроме того, идентифицирован связывающий их белок – IGFBP3. Указанный белок в норме синтезируется при участии немутированного гена p53 и обладает свойством косвенно (через связывание IGF) стимулировать апоптоз эпителиальных клеток ПЖ [8]. IGFBP3 выполняет для IGF транспортную и защитную функцию. Установлено, что простатспецифический антиген (ПСА) способен разрывать связь IGFBP3 с IGF, особенно в метастатических очагах РПЖ в костной ткани, и через систему высвободившихся инсулиноподобных факторов роста запускать механизм клеточного деления [6, 8].

Для каждого типа IGF имеется свой видоспецифический рецептор, входящий в сигнальную систему инсулиноподобных факторов роста. Установлено, что агонисты (золадекс, диферелин, бусерелин) и антагонисты (цетрореликс) гонадотропного рилизинг-гормона (ГнРГ) обладают способностью снижать экспрессию рецептора IGF1, а также активность тирозинкиназы у больных РПЖ, которая наиболее выражена у антагонистов ГнРГ [8].

Цель исследования – определение молекулярно-биологического фенотипа местнораспространенных и метастатических форм РПЖ путем сравнительного изучения содержания инсулиноподобного фактора роста IGF1 и его связывающего белка IGFBP3 в сыворотке крови пациентов до проведения специального лечения с учетом клинических, гормональных и морфологических характеристик заболевания.

**Материалы и методы исследования.** В исследование было включено 27 пациентов с впервые установленным местнораспространенным и метастатическим РПЖ, а также группа контроля. Забор крови для определения IGF1, IGFBP3, ПСА, половых гормонов у больных РПЖ и в группе сравнения (контроль) производили из кубитальной вены. В последующем путем центрифугирования получали сыворотку крови и замораживали ее при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Распределение больных РПЖ в зависимости от стадии заболевания представлено в табл. 1. Группа больных с впервые установленным местнораспространенным РПЖ с T3–4Nx–1M0 была представлена 21 пациентом. Группа больных с метастатическим РПЖ T3Nx–1M1 включала 6 пациентов.

Таблица 1. Распределение больных РПЖ в зависимости от стадии заболевания (Международная классификация TNM)

Показатель	РПЖ M0 (n = 21)		РПЖ M1 (n = 6)	
	абс.	%	абс.	%
T3	17	81	6	100
T4	4	19		
Nx	5	23,8	3	50
N(-)	14	66,6		
N(+)	2	9,5	3	50
<i>Сумма Gleason по трепан биопсии</i>				
2–4	6	28,5	–	–
5–6	6	28,5	2	33,3
7–10	9	42,8	4	66,6

Группа контроля состояла из 22 здоровых мужчин (средний возраст  $65,3 \pm 6,8$  года) с нормальным уровнем ПСА, нормальными данными пальцевого ректального исследования и трансректального ультразвукового исследования (УЗИ) ПЖ. Средний уровень общего и свободного ПСА в сыворотке крови в этой группе составлял  $2,3 \pm 2,5$  и  $1,1 \pm 1,4$  нг/мл соответственно, средний объем ПЖ –  $22,5 \pm 5,6$  см<sup>3</sup>. Определение общего ПСА в сыворотке крови производили в динамике ежегодно. У всех больных скорость прироста общего ПСА в среднем за год составила  $\leq 0,75$  нг/мл.

Пациентам проводили УЗИ брюшной полости, мочевого пузыря, трансректальное УЗИ ПЖ, ядерно-магнитную резонансную и компьютерную томографии (по показаниям) малого таза и ПЖ.

Морфологическую верификацию диагноза осуществляли, исследуя с помощью гистологических и цитологических методов образцы опухолевой ткани, полученные после выполнения трансректальной мультифокальной биопсии ПЖ под контролем УЗИ, позволявшей определить степень злокачественности по шкале Gleason. Для оценки распространенности РПЖ проводили рентгенологическое исследование костей скелета, рентгенографию органов грудной клетки, остеосцинтиграфию Tc-90, радиоизотопную ренографию.

Концентрацию IGF1, IGFBP3 в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью наборов реактивов IGF1 600, IGFBP3 фирмы DRG (Германия), концентрацию общего и свободного ПСА в сыворотке крови – иммуноферментным методом с помощью наборов реактивов фирмы «Хема-Медика» (Россия) и DRG (Германия). Для исследований использовали анализатор Behring Elisa Processor II фирмы Behring (Германия).

Определение половых гормонов в сыворотке крови осуществляли радиоиммунологическим методом на гамма-счетчике 1470 Wizard (Финляндия). Использовали стандартные наборы реактивов, меченные радиоактивным гамма-излучателем <sup>125</sup>I фирмы «ХопИбох» (Беларусь).

Статистический анализ проведен с помощью программы Statistica 6.0. Результаты исследования тестированы на нормальность распределения с использованием критерия Колмогорова–Смирнова, Лиллиефорса и W-теста Шапиро–Уилка. Корреляционный анализ осуществлен с помощью непараметрического теста Спирмена и множественной регрессии с определением критерия Фишера; сравнение статистических групп исследования проведено с применением дисперсионного непараметрического теста Крускала–Уоллиса, а также парного непараметрического критерия Манна–Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** Полученные в результате исследования данные о содержании в сыворотке крови IGFI, IGFBP3, ПСА, половых гормонов у больных изучаемых групп представлены в табл. 2.

Таблица 2. Характеристика пациентов с местнораспространенной и метастатической формами РПЖ и группы контроля по содержанию IGFI, IGFBP3 в сыворотке крови, уровню общего, свободного ПСА, половых гормонов и по объему ПЖ

Показатель	ТЗ–4N0–1M0 (n = 21)	ТЗN0–1M1 (n = 6)	Контроль (n = 22)
ПЖ, см <sup>3</sup>	49,8 ± 24,6*** (P = 0,001)	42,7 ± 4,5*** (P = 0,001)	22,5 ± 5,6
IGFI, нг/мл	119,2 ± 7,0 <sup>†</sup> (P = 0,007)	82,9 ± 6,1	99,2 ± 7,9** (P = 0,04)
IGFBP3, нг/мл	5553,44 ± 121,2 <sup>†</sup> (P = 0,01)	4943,3 ± 223,8*** (P = 0,01)	5588,5 ± 82,3
Общий ПСА, нг/мл	35,37 ± 39,0 <sup>†</sup> (P = 0,004)	145,1 ± 41,9*** (P = 0,001)	2,3 ± 2,5** (P = 0,001)
Свободный ПСА, нг/мл	8,5 ± 7,5 <sup>†</sup> (P = 0,0002)	76,5 ± 59,9*** (P = 0,001)	1,1 ± 1,4** (P = 0,001)
Эстрадиол, нмоль/л	0,15 ± 0,07 <sup>†</sup> (P = 0,02)	0,087 ± 0,05	0,172 ± 0,07
Тестостерон, нмоль/л	14,9 ± 8,2	13,7 ± 7,7	16,09 ± 14,5
Прогестерон, нмоль/л	1,0 ± 1,7	2,3 ± 2,3	1,1 ± 1,8
Пролактин, нг/мл	9,7 ± 6,1	8,2 ± 2,7	5,6 ± 2,3** (P = 0,01)
ФСГ, мМЕ/л	9,6 ± 6,2	8,7 ± 8,4	8,7 ± 7,1
ЛГ, мМЕ/л	7,5 ± 3,8	7,9 ± 6,0	8,7 ± 6,0

Примечание. Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения. Различия статистически значимы при  $P < 0,05$  (\* – по сравнению с группой ТЗN0–1M1; \*\* – по сравнению с группой ТЗ–4N0–1M0; \*\*\* – по сравнению с группой контроля).

В группе пациентов с метастатической формой РПЖ в 66% случаев отмечались низкодифференцированные опухоли (см. табл. 1). Уровень общего ПСА в сыворотке крови больных этой группы был в 4 раза выше, чем у пациентов с местнораспространенной формой РПЖ, а уровень IGFI и IGFBP3 – соответственно в 1,4 и 1,1 раза ниже (табл. 2). Установлено, что у пациентов, имевших отдаленные метастазы, уровень IGFI был ниже, чем в группе контроля, однако различия статистически недостоверны ( $P > 0,05$ ). Уровень IGFBP3 у пациентов с метастатической формой РПЖ был в 1,1 раза ниже, чем в группе контроля, на фоне более высокого уровня общего ПСА в сыворотке крови (табл. 2), что отмечается и другими исследователями [9, 10]. В доступной литературе нам не встретилось данных о содержании IGFI в сыворотке крови больных с метастатической формой РПЖ. Выявленная тенденция к значительному снижению содержания IGFI в сыворотке крови у больных этой немногочисленной группы труднообъяснима. По-видимому, это связано с малой статистической выборкой наблюдений. В проведенном нами исследовании у пациентов с метастатической формой РПЖ содержание в сыворотке крови эстрадиола и IGFI снижалось, а концентрации тестостерона оставались без изменений. Исследования последних лет указывают на существование альтернативных механизмов канцерогенеза РПЖ, например с участием эстрадиола [7].

У пациентов с местнораспространенной формой РПЖ уровень IGF1 в сыворотке крови был в 1,2 раза выше, чем у пациентов группы контроля, а уровень общего ПСА в 8,8 раз превышал верхнюю границу нормы (4 нг/мл), что согласуется с литературными данными [9–11]. Статистически значимых различий в содержании IGFBP3 в сыворотке крови больных сравниваемых групп не установлено (табл. 2).

При анализе зависимостей между гистологическими параметрами и лабораторными показателями у пациентов с РПЖ установлена статистически значимая корреляция между степенью злокачественности опухоли ПЖ по шкале Gleason с распространенностью опухолевого процесса ( $r = 0,43$ ;  $P = 0,02$ ), а также статистически значимая положительная корреляционная связь показателя общего ПСА с распространенностью РПЖ ( $r = 0,6$ ;  $P = 0,001$ ).

В группе контроля установлена статистически значимая корреляционная связь между уровнем в сыворотке крови IGF1 и концентрацией эстрадиола ( $r = 0,49$ ;  $P = 0,03$ ); между содержанием IGFBP3 и концентрацией тестостерона ( $r = 0,8$ ;  $P = 0,009$ ).

У пациентов с местнораспространенной формой РПЖ выявлена статистически значимая положительная корреляционная связь между уровнем в сыворотке крови IGFBP3 и концентрацией ФСГ ( $r = 0,64$ ;  $P = 0,005$ ), а также между содержанием IGF1 и концентрацией ЛГ ( $r = 0,55$ ;  $P = 0,01$ ).

Выявленная статистически значимая корреляционная взаимосвязь IGF1 и IGFBP3 с гормонами (ФСГ, ЛГ, эстрадиолом, тестостероном) в группе здоровых мужчин и пациентов с впервые выявленным местнораспространенным РПЖ указывает на их тесное взаимодействие при участии в сложных механизмах гормонального и пептидного сигналинга регуляции процессов морфогенеза ПЖ [8].

В группе пациентов с метастатической формой РПЖ достоверной корреляционной связи между содержанием в сыворотке крови IGF1, IGFBP3 и уровнем ПСА, половых гормонов, а также степенью злокачественности опухоли не установлено ( $P > 0,05$ ).

В ряде проспективных исследований, проведенных в США, показано, что повышение уровня IGF в сыворотке крови мужчин повышает риск заболевания РПЖ в 4 раза [11]. В то же время увеличение концентрации IGFBP3 является прогностически благоприятным фактором, что обусловлено снижением биодоступности IGF [9]. Исследование у больных РПЖ уровней концентрации IGF и IGFBP3 в сыворотке крови показало низкую чувствительность (57,6%) и специфичность (50%) последних при диагностике первичного РПЖ по сравнению с ПСА, где уровень чувствительности достигал 85,7% при специфичности 57% [10]. Однако изучение прогностической значимости IGF1 в сыворотке крови в плане развития ранних рецидивов, развития андрогенрезистентности и прогрессирования РПЖ с развитием метастатической болезни представляет значительный интерес. РПЖ – это многоступенчатый, поэтапный процесс трансформации нормальных эпителиоцитов ПЖ в злокачественные. В основе этих процессов лежат сложные генетические нарушения, которые, в свою очередь, приводят к изменению нормальных биохимических реакций на уровне стромально-эпителиального матрикса органа. IGF1 является непосредственным промотором митогенного сигнала для злокачественных эпителиальных клеток ПЖ, в отличие от ПСА, появление которого в сыворотке крови происходит значительно позже и обусловлено вторичными механизмами.

**Заключение.** Полученные данные о содержании в сыворотке крови IGF1 и связующего его белка IGFBP3, об их взаимосвязи с гипофизарными и стероидными гормонами, а также с клинико-морфологическими характеристиками у пациентов с РПЖ свидетельствуют об участии инсулиноподобного фактора роста в механизмах развития РПЖ.

По результатам проведенного исследования можно сделать заключение, что уровни IGF1 и IGFBP3 в сыворотке крови больных РПЖ отличаются от таковых у здоровых мужчин.

Тенденция к изменению содержания в сыворотке крови IGF1 и IGFBP3 у больных с впервые выявленным РПЖ зависит от наличия или отсутствия отдаленных метастазов, что указывает на то, что инсулиноподобный фактор роста I и блокирующий его белок могут рассматриваться как предиктивные факторы течения РПЖ.

Определение IGF1 и IGFBP3 в сыворотке крови больных РПЖ, возможно, может оказаться полезным при планировании индивидуальных схем лечения с применением ингибиторов факторов роста и проведении более эффективного контроля за появлением и развитием метастазов.

## Литература

1. Новик А. А., Камилова Т. А., Цыган В. Н. Введение в молекулярную биологию канцерогенеза. М., 2004.
2. Фаллер Д. М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки / Пер. с англ. М., 2004.
3. Зезеров Е. Г., Северин Е. С. // Вестн. РАМН. 1998. № 5. С. 29–35.
4. Зезеров Е. Г., Северин Е. С. // Вестн. РАМН. 1999. № 3. С. 49–56.
5. Зезеров Е. Г. // Вопр. онкологии. 2001. Т. 47, № 2. С. 174–181.
6. Кушлинский Н. Е., Соловьев Ю. Н., Трапезникова М. Ф. Рак предстательной железы. М., 2002.
7. Гарин А. М. // Материалы VII Рос. онкол. конгр. Москва, 25–27 ноября 2003 г. М., 2003. С. 28–32.
8. Де Вита Т. В., Хеллман С., Розенберг А. С. Биологические методы лечения онкологических заболеваний / Пер. с англ. М., 2002.
9. Заридзе Д. Г. Канцерогенез. М., 2004.
10. Трапезникова М. Ф., Шибаев А. Н., Яншин А. А. и др. // Урология. 2004. № 1. С. 17–22.
11. Pottak M. // Science. 1998. Vol. 279. P. 475–481.

*E. A. POVELITSA, A. A. NADYROV*

### **ESTIMATION OF THE CONCENTRATION OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR I (IGFI) AND INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-BINDING PROTEIN (IGFBP3) IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH DIFFERENT FORMS OF PROSTATE CANCER**

*Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus*

#### **Summary**

The growth factors in the blood serum of patients with prostate cancer were studied. The concentration of insulin-like growth factor I (IGFI) and insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP3), the level of reproductive sex hormones, total and free prostate specific antigen (PSA) levels in the blood serum of patients with local and metastatic forms of prostate cancer were determined before conducting special treatment, and also in the control group. The enzyme multiplied immunoassay in combination with the standard methods was used for examination of such patients. The results obtained show that the concentration of IGFI and IGFBP3 in the blood serum of patients with prostate cancer differs from that of healthy ones. Furthermore, the correlation of IGFI and its binding protein IGFBP3 concentration with the level of reproductive sex hormones in the blood serum, and also with the fundamental clinical-morphological characteristics of prostate cancer was established. It was shown that the tendency towards a change in the level of IGFI and IGFBP3 concentration in the blood serum of patients with first revealed prostate cancer depends on the presence or the absence of the distant metastases.

