

DOI: 10.26693/jmbs04.05.202

УДК 616.62-006.6-077.17

Федевич В. С.<sup>1</sup>, Мицик Ю. О.<sup>2</sup>, Борис Ю. Б.<sup>3</sup>

## МОЛЕКУЛЯРНІ МАРКЕРИ VEGF, TNF- $\alpha$ ТА TNF- $\beta$ У ХВОРИХ НА РАК СЕЧОВОГО МІХУРА СТАДІЇ T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК ЗІ СТУПЕНЕМ НЕОПЛАЗІЇ ПУХЛИНИ

<sup>1</sup>Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, Україна

<sup>2</sup>Львівська обласна клінічна лікарня, Україна

<sup>3</sup>Інститут спадкової патології НАМНУ, Львів, Україна

fedevychvit@gmail.com

Незважаючи на сучасні досягнення у діагностичній та лікувальній тактиці хворих на рак сечового міхура, актуальність цієї онкоурологічної проблеми залишається по дійсний час. Накопичено безліч даних, що підтверджують участь VEGF (фактор росту ендотелію судин) і TNF (фактор некрозу пухлини) у розвитку та прогресуванні злоякісних новоутворень і, отже, є перспективними мішенями при використанні таргетної терапії.

*Метою дослідження стало визначення молекулярних маркерів VEGF, TNF- $\alpha$  та TNF- $\beta$  у сечі хворих на рак сечового міхура стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> і встановлення їх зв'язку зі ступенем неоплазії G.*

У дослідження було включено 47 хворих на рак сечового міхура стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> (основна група). У якості контролю були використані клінічні дані 30 здорових осіб.

За результатами проведеного статистичного аналізу, у досліджуваних хворих середній рівень VEGF у сечі складав 245,65 $\pm$ 7,90 пг/мл і суттєво перевищував даний показник у контрольній групі, який становив 131,23 $\pm$ 7,80 пг/мл. При цьому, така різниця була статистично достовірною (p=0,04). При вивченні рівня VEGF у сечі хворих із ступенями неоплазії G1, G2, G3, було виявлено, що у згаданих підгрупах пацієнтів його середнє значення дорівнювало 239,59 $\pm$ 9,84 пг/мл, 246,84 $\pm$ 8,79 пг/мл та 251,57 $\pm$ 7,22 пг/мл відповідно.

Середній рівень TNF- $\alpha$  в сечі досліджуваних хворих складав 361,51 $\pm$ 6,76 пг/мл, а у контрольній групі – 352,68 $\pm$ 6,75 пг/мл, така різниця не була статистично достовірною (p>0,05). При визначенні рівнів TNF- $\alpha$  у хворих із різним ступенем неоплазії було виявлено, що у підгрупах пацієнтів із G1, G2, G3, середні значення цього маркера в сечі складала 360,04 $\pm$ 5,97 пг/мл, 361,92 $\pm$ 6,89 пг/мл та 363,07 $\pm$ 7,50 пг/мл відповідно.

Середній рівень TNF- $\beta$  в сечі досліджуваних хворих складав 38,27 $\pm$ 4,68 пг/мл, при цьому даний показник у контрольній групі становив 33,82 $\pm$

$\pm$ 4,62 пг/мл, а така різниця не була статистично достовірною (p>0,05). При ступеню неоплазії G1 середній рівень TNF- $\beta$  в сечі хворих становив 37,01 $\pm$ 4,46 пг/мл, при G2 – 38,30 $\pm$ 4,49 пг/мл та при G3 – 40,01 $\pm$ 4,83 пг/мл.

Таким чином, визначення вмісту молекулярних маркерів VEGF, TNF- $\alpha$  та TNF- $\beta$  у сечі хворих на рак сечового міхура стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> може слугувати підставою для розробки нових методів ранньої діагностики захворювання, а також прогнозування перебігу та оцінки ефективності лікування.

**Ключові слова:** рак сечового міхура, генотип, фактор росту ендотелію судин, фактор некрозу пухлини, поліморфізм, диференціація.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана відповідно до плану наукових робіт Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького і є фрагментом НДР «Розробка та удосконалення ефективності діагностичних і лікувальних методів онкоурологічних захворювань», № державної реєстрації 0113U004542.

**Вступ.** Незважаючи на сучасні досягнення у діагностичній та лікувальній тактиці хворих на рак сечового міхура (PCM), актуальність цієї онкоурологічної проблеми залишається по дійсний час.

Згідно даних національного канцерреєстру, у 2018 році показник захворюваності на рак сечового міхура складав 11,4 осіб на 100 тис. населення України. З числа вперше виявлених стадію T3 мали 14,7% хворих, а показник смертності становив 8 на 100 тис. чоловіків та 1,3 – жінок [1].

Одним з основних факторів виживання і поширення пухлинних клітин є ангиогенез. На даний момент, накопичено безліч даних, що підтверджують участь VEGF (фактор росту ендотелію судин) і TNF (фактор некрозу пухлини), відповідальних за мітогенну активність клітин, у розвитку та прогресуванні злоякісних новоутворень і, отже, є перспективними

мішенями при використанні таргетної терапії [2, 3, 4].

Ключову роль у формуванні нової судинної мережі при розвитку пухлини відіграє VEGF – глікопротеїн, який є одним з найважливіших стимуляторів ангиогенезу в різноманітних за характеристиками здорових і уражених раком тканинах [5]. Своєї функції VEGF виконує через тирозин-кіназний рецептор, розташований у мембрані ендотеліальних клітин. Поява нових судин сприяє прогресуванню захворювання, збільшуючи темпи росту пухлини та її здатність до метастазування. Оцінка ангиогенезу пухлини є важливою для прогнозування перебігу хвороби і призначення хіміотерапії при багатьох злоякісних пухлинах [6, 7].

TNF- $\alpha$  був ідентифікований у сироватці крові мишей. Як ендогенний тумороцидний агент, він продукується активованими під дією ендотоксина мононуклеарними макрофагами. Його характерна особливість – висока селективна токсичність по відношенню до пухлинних клітин. Тумороцидний фактор не має видової специфічності та не пошкоджує здорові клітини.

TNF- $\alpha$  та TNF- $\beta$  – два близьких (подібних) білки (гомологічними є приблизно 30% амінокислотних залишків) – проявляють подібну активність до запальної реакції, імунних та пухлинних процесів. TNF- $\beta$  або лімфотоксин був виявлений у лімфатичних вузлах імунізованих щурів. Джерелом TNF- $\alpha$  є активований макрофаг, TNF- $\beta$  – активована T-клітина. Через однакові специфічні рецептори TNF-клітинної поверхні обидва фактори викликають лізис клітин лімфоми, некроз саркоми індукованої метилхолантреномом, активують поліморфно-ядерні лімфоцити, проявляють протівірусну активність [8].

У літературі ми не знайшли інформацію про значення маркерів VEGF, TNF- $\alpha$  та TNF- $\beta$  у діагностиці та прогнозі перебігу неопластичного процесу у хворих на рак сечового міхура стадії T<sub>3</sub>, що і стало предметом даного дослідження.

**Мета дослідження:** визначити молекулярні маркери VEGF, TNF- $\alpha$  та TNF- $\beta$  у сечі хворих на рак сечового міхура стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> і встановити їх зв'язок зі ступенем неоплазії G.

**Матеріал та методи дослідження.** У дослідження було залучено 47 хворих на РСМ стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> (основна група), серед яких було 27 чоловіків та 20 жінок. Середній вік чоловіків складав 58,1 $\pm$ 7,8 років, жінок – 59,4 $\pm$ 1,3 років. У якості контролю були використані клінічні дані 30 здорових осіб.

Усі досліді проводили у відповідності до Конвенції Ради Європи «Про захист прав людини і людської гідності в зв'язку з застосуванням досяг-

нень біології та медицини: Конвенція про права людини та біомедицину (ETS № 164)» від 04.04.1997 р., і Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (2008 р.). Кожен пацієнт підписував інформовану згоду на участь у дослідженні і вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Приклади для ампліфікації VEGF взяті з роботи Lee et al., умови полімеразної ланцюгової реакції підбиралися експериментально. Для визначення G+405C поліморфізму ампліфіковані фрагменти довжиною 273 п.н. піддавали рестрикційному розщепленню ендонуклеазою BsmFI. Продукти рестрикції фракціонували в 2,2% агарозному гелі з бромистим етидієм і візуалізували в УФ-світлі. Патоморфологічне дослідження проводилось на світлооптичному мікроскопі «Prima Star», препарати фарбувалися гематоксилін-еозином, переглядалися при збільшеннях 100 та 400 разів.

Аналіз отриманих даних проводили за допомогою стандартних методів статистичної обробки з використанням програмного забезпечення Microsoft Office Excel та пакета програм Statistica v6.0. Статистичну обробку отриманих даних проводили методами непараметричної статистики. В якості критерія достовірності різниці між групами використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні і тест Вілкоксона. Також отримані дані представлені у вигляді медіани з мінімальним та максимальним розбігом для непараметричних складових. 95% довірчий інтервал оцінювався з використанням моделей випадкових та фіксованих ефектів [9].

#### **Результати дослідження та їх обговорення.**

За результатами проведеного статистичного аналізу, у хворих на РСМ стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> середній рівень VEGF у сечі складав 245,65 $\pm$ 7,90 пг/мл і суттєво перевищував даний показник у контрольній групі, який становив 131,23 $\pm$ 7,80 пг/мл. При цьому, така різниця була статистично достовірною (p=0,04). Детальну статистичну характеристику показників VEGF у сечі досліджуваних груп наведено в **таблиці 1**.

При вивченні рівня VEGF у сечі хворих із ступенями неоплазії G1, G2, G3, було виявлено, що у згаданих підгрупах пацієнтів його середнє значення дорівнювало 239,59 $\pm$ 9,84 пг/мл, 246,84 $\pm$ 8,79 пг/мл та 251,57 $\pm$ 7,22 пг/мл відповідно.

Як впливає з отриманих даних, дещо частіше ми спостерігали низький ступінь неоплазії G1, він був виявлений у 19 з 47 хворих, що становило 40,43%, G1 було діагностовано у 34,04% пацієнтів, а ступінь G3 – у 25,53% хворих на РСМ стадії. Слід наголосити, що у зв'язку із ретроспективним характером дослідження, наведені вище дані не цілком відображують дійсну епідеміологічну ситуацію

Таблиця 1 – Рівень VEGF у хворих на PCM стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>

Групи/ підгрупи	Кількість хворих		Середній рівень VEGF (VEGF <sub>сер</sub> )±D, пг/мл	95% ДІ для VEGF <sub>сер</sub> , пг/мл	Медіана, пг/мл	min, пг/мл	max, пг/мл
	абс.	%					
T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub>	47	100	245,65±7,90	241,18-250,12	248,65	149,73	283,98
T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> G1	19	40,43	239,59±9,84	230,97-248,21	243,86	149,73	280,73
T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> G2	16	34,04	246,84±8,79	240,87-252,81	249,80	185,36	283,73
T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> G3	12	25,53	251,57±7,22	243,53-259,61	259,35	153,73	283,98
Контроль	30	-	131,23±7,80	121,71-140,75	135,14	0	150,00
P <sub>1,контроль</sub>	-	-	0,04	-	-	-	-
P <sub>2,контроль</sub>	-	-	0,05	-	-	-	-
P <sub>3,контроль</sub>	-	-	0,04	-	-	-	-
P <sub>3,контроль</sub>	-	-	0,02	-	-	-	-
P <sub>2,3</sub>	-	-	0,54	-	-	-	-
P <sub>2,4</sub>	-	-	0,32	-	-	-	-
P <sub>3,4</sub>	-	-	0,16	-	-	-	-

щодо частоти ступенів неоплазії PCM стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>.

Отримані в ході дослідження дані щодо рівнів TNF-а в сечі хворих на PCM стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> не мали принципових відмінностей від результатів отриманих при вивченні стадій T1 та T2: у хворих на PCM середній рівень TNF-а в сечі складав 361,51±±6,76 пг/мл, а у контрольній групі – 352,68±±6,75 пг/мл, така різниця не була статистично достовірною (p>0,05).

При визначенні рівнів TNF-а у хворих із різним ступенем неоплазії було виявлено, що у підгрупах пацієнтів із G1, G2, G3, середні значення цього маркера в сечі склали 360,04±5,97 пг/мл, 361,92±6,89 пг/мл та 363,07±7,50 пг/мл відповідно, що поруч із детальними статистичними даними наведено у таблиці 2.

За даними проведеного дослідження, у хворих на PCM стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> середній рівень TNF-β в сечі складав 38,27±4,68 пг/мл, при цьому даний показник у контрольній групі становив 33,82±4,62 пг/мл, а така різниця не була статистично достовірною (p>0,05).

У хворих на PCM та ступенем неоплазії G1 середній рівень TNF-β в сечі становив 37,01±4,46 пг/мл, при ступеню G2 – 38,30±4,49 пг/мл та при ступеню неоплазії пухлини G3 – 40,01±4,83 пг/мл (табл. 3).

Song Y. Та співавт. [7] провели метааналіз 15 різноманітних публікацій з баз даних PubMed, Embase и Medline для оцінки зв'язку між поліморфізмом VEGF rs699947 та ризиком урологічних новоутворень. Авторами були доведені більш тісний зв'язок вказаного VEGF щодо ризику раку сечового

Таблиця 2 – Рівень TNF-α у хворих на PCM стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>

Групи/ підгрупи	Кількість хворих		Середній рівень TNF-α (TNF-α <sub>сер</sub> )±D, пг/мл	95% ДІ для TNF-α <sub>сер</sub> , пг/мл	Медіана, пг/мл	min, пг/мл	max, пг/мл
	абс.	%					
T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub>	47	100	361,51±6,76	359,58-363,44	361,58	350,21	375,39
T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> G1	19	40,43	360,04±5,97	357,35-362,73	360,18	350,21	368,75
T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> G2	16	34,04	361,92±6,89	358,24-365,3	360,81	350,35	374,25
T <sub>3</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> G3	12	25,53	363,07±7,50	358,83-367,31	365,0	350,32	375,39
Контроль	30	-	352,68±6,75	350,26-350,26	350,99	342,82	365,23
P <sub>1,контроль</sub>	-	-	0,51	-	-	-	-
P <sub>2,контроль</sub>	-	-	0,61	-	-	-	-
P <sub>3,контроль</sub>	-	-	0,68	-	-	-	-
P <sub>4,контроль</sub>	-	-	0,56	-	-	-	-
P <sub>2,3</sub>	-	-	0,51	-	-	-	-
P <sub>2,4</sub>	-	-	0,64	-	-	-	-
P <sub>3,4</sub>	-	-	0,55	-	-	-	-

Таблиця 3 – Рівень TNF- $\beta$  у хворих на РСМ стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>

Групи/ підгрупи	Кількість хворих		Середній рівень TNF- $\beta$ (TNF- $\beta_{\text{сер}} \pm D$ , пг/мл)	95%ДІ для TNF- $\beta_{\text{сер}}$ , пг/мл	Медіана, пг/мл	min, пг/мл	max, пг/мл
	абс.	%					
T3N0M0	47	100	38,27 $\pm$ 4,68	36,95-39,59	37,66	30,15	46,55
T3N0M0,G1	19	40,43	37,01 $\pm$ 4,46	35,44-38,58	36,50	30,15	45,17
T3N0M0,G2	16	34,04	38,30 $\pm$ 4,49	36,6-40,00	37,74	30,68	45,70
T3N0M0,G3	12	25,53	40,01 $\pm$ 4,83	37,99-42,03	39,77	31,59	46,55
Контроль	30	-	33,82 $\pm$ 4,62	32,17-35,47	34,08	27,04	42,02
P <sub>1,контроль</sub>			0,45				
P <sub>2,контроль</sub>	-	-	0,38	-	-	-	-
P <sub>3,контроль</sub>	-	-	0,25	-	-	-	-
P <sub>4,контроль</sub>	-	-	0,18	-	-	-	-
P <sub>2,3</sub>	-	-	0,63	-	-	-	-
P <sub>2,4</sub>	-	-	0,71	-	-	-	-
P <sub>3,4</sub>	-	-	0,32	-	-	-	-

міхура у гетерозиготній генетичній моделі (OR = 1,48, 95%CI = 1,17-1,89), а також підвищений ризик нирково-клітинного раку у домінантних, рецесивних гомо- та гетерозиготних генетичних моделях, але при раку передміхурової залози ніякої асоціації виявлено не було. В свою чергу Stingl Jankovic K. та співавт. [6] довели позитивний зв'язок алеля TNF- $\beta$ 5 у пацієнтів з раком передміхурової залози, що демонструє можливу роль в етіології захворювання.

Fu D. Та співавт. [3] при дослідженні однонуклеотидних поліморфізмів з поліморфізмами генів VEGF, довели зв'язок з ризиком розвитку рака сечового міхура.

Проведене нами дослідження щодо визначення молекулярних маркерів VEGF, TNF- $\alpha$  та TNF- $\beta$  у сечі хворих на рак сечового міхура стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> і встановлення їх зв'язку зі ступенем неоплазії G довели, що хворих на РСМ стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> середній рівень VEGF в сечі складав 245,65 $\pm$ 7,90 пг/мл і

суттєво перевищував даний показник у контрольній групі, який становив 131,23 $\pm$ 7,80 пг/мл. При цьому, така різниця була статистично достовірною. У діагностиці РСМ чутливість та специфічність рівню в сечі TNF- $\alpha$ , були невисокими та складали 30% та 20% відповідно, а рівню TNF- $\beta$  ще нижчими – 25% та 20% відповідно, що не є репрезентативним для даного захворювання.

**Висновки.** Таким чином, визначення вмісту молекулярних маркерів VEGF, TNF- $\alpha$  та TNF- $\beta$  у сечі хворих на рак сечового міхура стадії T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> може слугувати підставою для розробки нових методів ранньої діагностики захворювання, а також прогнозування перебігу та оцінки ефективності лікування.

**Перспективи подальших досліджень** будуть спрямовані на визначення молекулярних маркерів VEGF, TNF- $\alpha$  та TNF- $\beta$  у хворих на рак сечового міхура у стадії T<sub>4</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> та їх зв'язок із ступенем неоплазії пухлини.

## References

1. Rak v Ukraini, 2017-2018. Zakhvoryuvanist, smertnist, pokaznyky diyalnosti onkologichnoi sluzhby [Cancer in Ukraine, 2017-2018. Morbidity, mortality, indicators of oncology service activity]. *Byuleten Natsionalnoho kantser-reyestru Ukrainy*. 2019; 20: 58-9. [Ukrainian]
2. Popkov VM, Ponukalyn AN, Zakharova NB. Faktor rosta endotelyyya sosudov v dyahnostyke metastazov myshechno-nyvazyvnoho raka mochevoho puzyrya [Vascular endothelial growth factor in the diagnosis of metastases of muscle-invasive bladder cancer]. *Onkourolohiya*. 2016; 2(12): 53-7. [Russian] doi: 10.17650/1726-9776-2016-12-2-53-57
3. Fu D, Li P, Cheng W, Tian F, Xu X, Yi X, et al. Impact of vascular endothelial growth factor gene-gene and gene-smoking interaction and haplotype combination on bladder cancer risk in Chinese population. *Oncotarget*. 2017 Apr 4; 8(14): 22927-35. PMID: 28206971. PMCID: PMC5410274. DOI: 10.18632/oncotarget.15287
4. Song Y, Yang Y, Liu L, Liu X. Association between five polymorphisms in vascular endothelial growth factor gene and urinary bladder cancer risk: A systematic review and meta-analysis involving 6671 subjects. *Gene*. 2019 May 25; 698: 186-97. PMID: 30849545. DOI: 10.1016/j.gene.2019.02.070
5. Wang J, Shen C, Fu Y, Yu T, Song J. The associations between five polymorphisms of vascular endothelial growth factor and renal cell carcinoma risk: an updated meta-analysis. *Onco Targets Ther*. 2017 Mar 21; 10: 1725-34. PMID: 28356760. PMCID: PMC5367456. DOI: 10.2147/OTT.S125965

6. Stingl Jankovic K, Hudolin T, Kastelan Z, Zunec R, Grubic Z. The possible role of the tumour necrosis factor polymorphisms and human leucocyte antigens in the development of prostate cancer *Int J Immunogenet.* 2016 Jun; 43(3): 143-50. PMID: 27102235. DOI: 10.1111/iji.12262
7. Song Y, Hu J, Chen Q, Guo J, Zou Y, Zhang W, et al. Association between vascular endothelial growth factor rs699947 polymorphism and the risk of three major urologic neoplasms (bladder cancer, prostate cancer, and renal cell carcinoma): A meta-analysis involving 11,204 subjects. *Gene.* 2018 Dec 30; 679: 241-52. PMID: 30195633. DOI: 10.1016/j.gene.2018.09.005
8. Shen M, Zhou L, Zhou P, Zhou W, Lin X. Lymphotoxin  $\beta$  receptor activation promotes mRNA expression of RelA and pro-inflammatory cytokines TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in bladder cancer cells. *Mol Med Rep.* 2017 Jul; 16(1): 937-42. PMID: 28586003. DOI: 10.3892/mmr.2017.6676
9. Hlants S. *Mediko-biologicheskaya statistika.* Per s anhl. M: Praktika; 1998. 459 s. [Russian]

УДК 616.62-006.6-077.17

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ VEGF, TNF- $\alpha$  И TNF- $\beta$   
У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ СТАДИИ T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>  
И ИХ СВЯЗЬ СО СТЕПЕНЬЮ НЕОПЛАЗИИ ОПУХОЛИ  
Федевич В. С., Мыщик Ю. О., Борис Ю. Б.**

**Резюме.** Несмотря на современные достижения в диагностической и лечебной тактике больных с раком мочевого пузыря, актуальность этой онкоурологической проблемы сохраняется по настоящее время. Накоплено множество данных, подтверждающих участие VEGF (фактора роста эндотелия сосудов) и TNF (фактора некроза опухоли) в развитии и прогрессировании злокачественных новообразований и, соответственно, являющихся перспективными мишенями при использовании таргетной терапии.

*Целью исследования* стало определение молекулярных маркеров VEGF, TNF- $\alpha$  и TNF- $\beta$  в моче больных раком мочевого пузыря стадии T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> и установления их связи со степенью неоплазии G.

В исследование было включено 47 больных с раком мочевого пузыря стадии T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> (основная группа). В качестве контроля были использованы клинические данные 30 здоровых людей.

По результатам проведенного статистического анализа, у исследуемых больных средний уровень VEGF в моче составлял 245,65 $\pm$ 7,90 пг/мл существенно превышал данный показатель в контрольной группе, который составлял 131,23 $\pm$ 7,80 пг/мл. При этом такая разница была статистически достоверной (p=0,04). При изучении уровня VEGF в моче больных со степенью неоплазии G1, G2, G3, было выявлено, что в упомянутых подгруппах пациентов его среднее значение составляло 239,59 $\pm$ 9,84 пг/мл, 246,84 $\pm$ 8,79 пг/мл та 251,57 $\pm$ 7,22 пг/мл соответственно.

Средний уровень TNF- $\alpha$  в моче исследуемых больных составлял 361,51 $\pm$ 6,76 пг/мл, а в контрольной группе – 352,68 $\pm$ 6,75 пг/мл, такая разница не была статистически достоверной (p>0,05). При определении уровней TNF- $\alpha$  у больных с разной степенью неоплазии было выявлено, что в подгруппах пациентов G1, G2, G3 средние значения этого маркера в моче составляли 360,04 $\pm$ 5,97 пг/мл, 361,92 $\pm$ 6,89 пг/мл та 363,07 $\pm$ 7,50 пг/мл соответственно.

Средний уровень TNF- $\beta$  в моче исследуемых больных составлял 38,27 $\pm$ 4,68 пг/мл, при этом данный показатель в контрольной группе составлял 33,82 $\pm$ 4,62 пг/мл, и такая разница не была статистически достоверной (p>0,05). При степени неоплазии G1 средний уровень TNF- $\beta$  в моче больных составлял 37,01 $\pm$ 4,46 пг/мл, при G2 – 38,30 $\pm$ 4,49 пг/мл и при G3 – 40,01 $\pm$ 4,83 пг/мл.

Таким образом, определение содержания молекулярных маркеров VEGF, TNF- $\alpha$  и TNF- $\beta$  в моче больных с раком мочевого пузыря в стадии T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> может быть основанием для разработки новых методов ранней диагностики заболеваний, а также прогнозирования течения и оценки эффективности лечения.

**Ключевые слова:** рак мочевого пузыря, генотип, фактор роста эндотелия сосудов, фактор некроза опухоли, полиморфизм, дифференциация.

UDC 616.62-006.6-077.17

**Molecular Markers of VEGF, TNF- $\alpha$  and TNF- $\beta$  in Patients with Bladder Cancer in Stage T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>  
and their Relationship with the Degree of Tumor Neoplasia  
Fedevych V. S., Mytsyk Yu. O., Borys Yu. B.**

**Abstract.** Despite the recent advances in the diagnostic and therapeutic tactics of patients with bladder cancer, the relevance of this oncological problem remains problematic up to now.

Angiogenesis is one of the main factors in the survival and spread of tumor cells. At the moment, there is a wealth of evidence confirming the involvement of growth factors, in particular, VEGF (vascular endothelial



growth factor) and TNF (tumor necrosis factor) responsible for the mitogenic activity of cells in the development and progression of malignancies and, therefore, are promising targets when using targeted therapy.

*The purpose of the study was to determine the molecular markers of VEGF, TNF- $\alpha$  and TNF- $\beta$  in the urine of patients with bladder cancer stage T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> and to establish their relation to the degree of G neoplasia.*

*Material and methods.* The study included 47 patients with bladder cancer stage T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> (main group). There were 27 men and 20 women among them. The age of men was 58.1 $\pm$ 7.8 and women – 59.4  $\pm$ 1.3 years. Clinical data from 30 healthy individuals were used as control group data.

*Results and discussion.* According to the results of the statistical analysis, patients with bladder cancer stage T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> had the average level of VEGF in urine 245.65 $\pm$ 7.90 pg / ml which significantly exceeded this indicator in the control group, which was 131.23 $\pm$ 7.80 pg / ml. However, this difference was statistically significant ( $p = 0.04$ ). When studying the level of VEGF in the urine of patients with degrees of neoplasia G1, G2, G3, we found out that in the mentioned subgroups of patients, its average value was 239.59 $\pm$  9.84 pg / ml, 246.84 $\pm$   $\pm$ 8.79 pg / ml and 251.57 $\pm$ 7.22 pg / ml, respectively.

We observed a low degree of G1 neoplasia more frequently. It was detected in 19 of 47 patients, accounting for 40.43%. G1 was diagnosed in 34.04% of patients, and G3 in 25.53% of bladder cancer patients in stage T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>. It should be emphasized that due to the retrospective nature of the study, the above data did not fully reflect the actual epidemiological situation regarding the incidence of T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> stage bladder neoplasia.

The data obtained during the study on the levels of TNF- $\alpha$  in the urine of patients with bladder cancer in stage T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> had no fundamental differences from the results obtained in the study of stages T1 and T2: the average level of TNF- $\alpha$  in the urine was 361.51 $\pm$ 6.76 pg / ml and 352.68 $\pm$ 6.75 pg / ml in the control group. This difference was not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

When determining TNF- $\alpha$  level in patients with different degrees of neoplasia, we found out that in subgroups of patients with G1, G2, G3, the mean values of this marker in the urine were 360.04 $\pm$ 5.97 pg / ml, 361.92 $\pm$ 6.89 pg / ml and 363.07 $\pm$ 7.50 pg / ml, respectively.

In patients with stage 3 T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> bladder cancer, the average level of TNF- $\beta$  in the urine was 38.27 $\pm$ 4.68 pg / ml, with this indicator in the control group being 33.82 $\pm$ 4.62 pg / ml, but this difference did not was statistically significant ( $p > 0.05$ ).

In patients with bladder cancer and the degree of G1 neoplasia, the average level of TNF- $\beta$  in the urine was 37.01 $\pm$ 4.46 pg / ml, at the degree of G2 it was 38.30 $\pm$ 4.49 pg / ml, and at the degree of neoplasia of the tumor G3 it equaled 40.01 $\pm$ 4.83 pg / ml.

Our study had the purpose to determine the molecular markers of VEGF, TNF- $\alpha$  and TNF- $\beta$  in the urine of patients with bladder cancer stage T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> and establish their relationship with the degree of neoplasia G, and showed that the average level of VEGF in the urine was 245.65 $\pm$ 7.90 pg / ml and significantly exceeded this indicator in the control group, which amounted to 131.23 $\pm$ 7.80 pg / ml. However, this difference was statistically significant. In the diagnosis of bladder cancer, the sensitivity and specificity of urinary TNF- $\alpha$  levels were low and were 30% and 20%, respectively, and TNF- $\beta$  levels they were even lower – 25% and 20%, respectively, which is not representative for the disease.

*Conclusion.* Thus, the determination of the molecular markers of VEGF, TNF- $\alpha$  and TNF- $\beta$  in the urine of patients with bladder cancer in stage T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> may serve the basis for the development of new methods for early diagnosis of the disease, as well as predicting the course and evaluating the effectiveness of treatment.

**Keywords:** bladder cancer, genotype, vascular endothelial growth factor, tumor necrosis factor, polymorphism, differentiation.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 06.06.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування