

Ocena stężenia bFGF w surowicy krwi kobiet z guzami złośliwymi i niezłośliwymi jajnika

Analysis of serum bFGF concentration in women with malignant and benign ovarian tumors

Оценка концентрации bFGF в сыворотке крови женщин со злокачественными

и незлокачественными опухолями яичников

¹ Klinika Ginekologii Operacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Stefan Sajdak

² Zakład Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Correspondence to: Rafał Moszyński, Klinika Ginekologii Operacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Polna 33, 60-535 Poznań, tel.: 061 841 94 90, faks: 061 841 94 18, e-mail: kgo@gpsk.am.poznan.pl

Source of financing: Department own sources

Streszczenie

Cel: Celem pracy była ocena surowiczego stężenia bFGF u kobiet ze złośliwym i niezłośliwym guzem jajnika. **Material i metody:** Badaniami objęto 62 pacjentki leczone w Klinice Ginekologii Operacyjnej UM w Poznaniu w latach 2006-2009. Pacjentki podzielono na dwie grupy: chore z rakiem jajnika (grupa 1.; n=17) i kobiety z guzem niezłośliwym (grupa 2.; n=45). Stężenie bFGF analizowano w poszczególnych grupach w zależności od różnych cech choroby. **Wyniki:** Mediana stężenia bFGF w grupie 1. wynosiła 40,10 pg/ml (95% CI: 29,17-113,89), natomiast w grupie 2. – 20,60 pg/ml (95% CI: 16,33-36,59). Różnica ta była bliska istotności statystycznej (p=0,068). W prognozowaniu raka jajnika bFGF uzyskał czułość równą 47%, swoistość – 93%, PPV – 73%, NPV – 82% przy polu pod krzywą ROC (AU-ROC) równym 0,647. Analiza AU-ROC dla bFGF i CA-125 wykazała wyższość CA-125 w predykcji raka jajnika (p=0,011). Mediana stężeń bFGF u kobiet z rakiem jajnika w III i IV stopniu według FIGO wynosiła 99,60 pg/ml (95% CI: 37,59-185,04) i była istotnie statystycznie wyższa niż w I i II stopniu FIGO (16,29 pg/ml, 95% CI: 4,57-37,78; p=0,025). W rakach jasnokomórkowych i niezróżnicowanych występowały wyższe stężenia bFGF (p=0,0037). Nie zaobserwowano korelacji między bFGF a stopniem złośliwości histologicznej (p=0,56) ani wielkością guza (grupa 1.: p=0,56; grupa 2.: p=0,87). **Wnioski:** U kobiet z rakiem jajnika stężenia bFGF są wyższe niż u kobiet z guzami niezłośliwymi, a różnice te są bliskie istotności statystycznej. U kobiet z rakiem jajnika stężenie bFGF jest istotnie wyższe w zaawansowanych stadiach choroby. bFGF może być cennym uzupełnieniem diagnostyki przedoperacyjnej guzów jajnika.

Słowa kluczowe: bFGF, CA-125, rak jajnika, guzy jajnika, diagnostyka

Summary

Aim of paper: The purpose of this paper was to assess serum bFGF level on women with malignant and benign ovarian cancer. **Material and methods:** The study encompassed 62 patients treated at the Department of Surgical Gynaecology of the Medical University in Poznań since 2006 thru 2009. The patients were subdivided into two groups: those harboring ovarian cancer (group 1; n=17) and those affected with a benign tumor (group 2; n=45). Serum bFGF level was assessed in both groups in relation to several features of the disease. **Results:** Median serum bFGF level in group 1 was 40.10 pg/ml (95% CI: 29.17-113.89), while in group 2 – 20.60 pg/ml (95% CI: 16.33-36.59). The difference was close to statistical significance (p=0.068). Prognostic value of bFGF in ovarian cancer in terms of sensitivity and specificity was 47% and 93%, respectively. Its positive predictive value (PPV) was 73%, negative predictive value (NPV) – 82%, and AU-ROC (area under curve) – 0.647. Analysis of AU-ROC for bFGF and CA-125 revealed superior predictive value of the latter in ovarian cancer (p=0.011). Median serum bFGF level in women with ovarian cancer at FIGO stage III and IV was 99.60 pg/ml (95% CI: 37.59-185.04) and was significantly higher than at FIGO stage I and II (16.29 pg/ml; 95% CI: 4.57-37.78; p=0.025). In clear-cell- and non-differentiated cancers, higher serum bFGF level was noticed (p=0.0037). No correlations have been noticed between bFGF and histological malignancy grade (p=0.56) or tumor size (group 1: p=0.56; group 2: p=0.87). **Conclusions:** In women affected with ovarian cancer, serum bFGF level is higher than in those harboring benign tumors and the difference is close to statistical significance. In women with

ovarian cancer, serum bFGF level is significantly higher in those at more advanced clinical stage of the disease. bFGF may be a valuable adjunct in preoperative diagnostic work-up of ovarian tumors.

Key words: bFGF, CA-125, ovarian cancer, ovarian tumor, diagnosis

Содержание

Цель: Целью исследования была оценка концентрации в сыворотке bFGF у женщин со злокачественной и незлокачественной опухолью яичника. **Материал и методы:** В исследования были включены 62 пациентки, проходящие лечение в Клинике Операционной Гинекологии Медицинского Университета в Познани в годах 2006-2009. Пациентки были разделены на две группы: больные с раком яичника (группа 1) (n=17) и женщины с незлокачественной опухолью (группа 2) (n=45). Концентрация bFGF была проанализирована в различных группах в зависимости от различных характеристик этой болезни. **Результаты:** Средняя концентрация bFGF в группе 1 составляла 40,10 пг/мл (95% CI: 29,17-113,89), зато в группе 2 – 20,60 пг/мл (95% CI: 16,33-36,59). Эта разница была близка к статистической значимости (p=0,068). В прогнозировании рака яичника bFGF получил чувствительность равную 47%, специфичность – 93%, PPV – 73%, NPV – 82%, в поле кривой ROC (AU-ROC) равную 0,647. Анализ AU-ROC для bFGF и CA-125 показал превосходство CA-125 в прогнозировании рака яичника (p=0,011). Медиана концентрации bFGF у женщин с раком яичника в III и IV степени по FIGO было равна 99,60 пг/мл (95% CI: 37,59-185,04) и была статистически значимо выше чем в I и II степени FIGO (16,29 пг/мл, 95% CI: 4,57-37,78) (p=0,025). В ясноклеточных и недифференцированных раках выступала высшая концентрация bFGF (p=0,0037). Не обнаружено корреляции между bFGF и степенью гистологической злобности (p=0,56) или размером опухоли (группа 1: p=0,56; группа 2: p=0,87). **Выводы:** У женщин с раком яичника концентрация bFGF была выше чем у женщин с незлокачественными опухолями и эти различия были близкими к статистической значимости. У женщин с раком яичника концентрация bFGF значительно выше на продвинутых стадиях заболевания. bFGF может стать ценным дополнением предоперационной диагностики опухолей яичника.

Ключевые слова: bFGF, CA-125, рак яичника, опухоли яичника, диагностика

WSTĘP

Według Zakładu Epidemiologii i Prewencji Nowotworów Centrum Onkologii – Instytutu w Warszawie i danych z 2006 roku rak jajnika pod względem częstości występowania zajmuje 6. miejsce wśród nowotworów złośliwych u kobiet w Polsce, jednocześnie stanowiąc piątą przyczynę zgonów z powodu nowotworów złośliwych w tej grupie populacyjnej⁽¹⁾. Chociaż statystyki amerykańskie wskazują na istotne zwiększenie odsetka 5-letnich przeżyć (z 37,2 do 45,6%) w ciągu ostatnich 35 lat, obecnie notowany wskaźnik przeżywalności obrazuje, jak wielkim problemem jest terapia raka jajnika⁽²⁾.

W ostatnich latach coraz większą rolę w onkologii odgrywają leki biologiczne celujące w określone mechanizmy regulujące progresję nowotworu. Głównymi punktami uchwytu dla takich terapeutyków są czynniki wzrostu oraz czynniki proangiogenne. Jednym z regulatorów wzrostu i angiogenezy jest zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF, *basic fibroblast growth factor*, FGF2), będący potencjalnym celem nowoczesnej terapii przeciwnowotworowej⁽³⁾.

CEL

Celem pracy była ocena stężenia bFGF w surowicy krwi kobiet z rozpoznany rakiem jajnika w zależności od poszczególnych cech choroby nowotworowej oraz porównanie go ze stężeniem bFGF w grupie kobiet z niezłośliwym guzem jajnika.

INTRODUCTION

According to the estimates of the Department of Epidemiology and Tumour Prevention of the National Institute of Oncology in Warsaw based on data from 2006, ovarian cancer was the 6th most frequent malignancy in Polish women, while being the 5th most frequent cause of malignancy-associated mortality in this group of population⁽¹⁾. Although American statistics indicate a significant improvement of 5-years' survival rate over the past 35 years (from 37.2% to 45.6%), current survival rate clearly illustrates the entire complexity of ovarian cancer therapy⁽²⁾.

Over the past years, we are witnessing an increasing role of biological drugs in oncology, targeted at specific mechanisms controlling tumor progression. The main target for this class of drugs is growth factors and proangiogenic factors. One of regulators of growth and angiogenesis is basic fibroblast growth factor (bFGF; FGF2), being also a potential target for modern antineoplastic therapy⁽³⁾.

AIM OF STUDY

The aim of this study was to assess serum bFGF level in women with diagnosed ovarian cancer, depending on particular features of neoplastic disease and to compare them with serum bFGF level in women with benign ovarian tumors.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badany obejmował 62 pacjentki diagnozowane i leczone operacyjnie z powodu guzów jajnika w Klinice Ginekologii Operacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Badania prowadzono w latach 2006-2009. Krew do oznaczeń stężenia ludzkiego bFGF pobrano od pacjentek na 1-5 dni przed operacją. Stężenie bFGF zostało oceniane za pomocą testu ELISA firmy R & D Systems (Human FGF basic DuoSet, nr kat. DY233). Diagnostykę obrazową wykonywano aparatem firmy Aloka model 5500 SSD z głowicą dopochwową o częstotliwości 7,5 MHz. W celu oceny stężenia markera CA-125 w surowicy badanych kobiet wykorzystano test immunoenzymatyczny ST AIA-PACK OVCA firmy TOSOH, Japonia.

W oparciu o wynik badania histopatologicznego usuniętego guza pacjentki podzielono na dwie grupy: pacjentki z rakiem jajnika (n=17) oraz pacjentki z guzem niezłośliwym (n=45). Następnie porównano średnie surowicze stężenia bFGF w obu grupach i oceniono użyteczność bFGF jako biomarkera raka jajnika w odniesieniu do CA-125. W grupie kobiet z rozpoznanym rakiem jajnika poszukiwano korelacji pomiędzy stężeniem bFGF a stopniem zaawansowania nowotworu, typem histopatologicznym, stopniem złośliwości histologicznej (G) oraz wielkością guza.

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programów: GraphPad InStat 3.06 oraz Statistica 6.0 StatSoft.

WYNIKI

W grupie obejmującej pacjentki z rozpoznanym rakiem jajnika średni wiek wynosił 56,7 (SD±12,4) roku, natomiast w grupie kobiet z guzem niezłośliwym był równy 50,6 (SD±10,4) roku i statystycznie nie różnił się istotnie (p=0,12).

W grupie 1. najczęściej pacjentek (n=8) zdiagnozowano w III stopniu zaawansowania klinicznego według FIGO. W stopniu I, II i IV według FIGO znajdowały się odpowiednio 3, 4 oraz 2 pacjentki.

Mediana objętości zmiany mierzona w USG w grupie 1. wynosiła 433,50 cm³ (95% CI: 202,07-1170,90) i była istotnie większa niż w grupie drugiej (70,00 cm³; 95% CI: 74,21-196,69) (p=0,0009). Wśród chorych z grupy 1. rozkład typów histologicznych raka jajnika przedstawiał się następująco: 9 gruczolakoraków surowicznych, 4 gruczolakoraki śluzowe, 2 gruczolakoraki endometrioidne, 1 gruczolakorak jasnokomórkowy i 1 rak niezróżnicowany.

Mediana stężenia bFGF w grupie kobiet z rakiem jajnika wyniosła 40,10 pg/ml (95% CI: 29,17-113,89), natomiast w grupie 2. – 20,60 pg/ml (95% CI: 16,33-36,59). Różnica w medianach stężeń bFGF pomiędzy grupami była bliska poziomowi istotności statystycznej (p=0,068). Przy stężeniu równym 61,24 pg/ml, charakteryzującym się największą dokładnością testu (ACC=80%), bFGF uzyskał czułość, swoistość, pozytywną wartość predykcyjną (PPV) oraz negatywną wartość predykcyjną (NPV) równą odpowiednio: 47, 93, 73, 82%, a pole pod krzywą ROC (AU-ROC) wynosiło 0,647. Dla porównania

MATERIAL AND METHODS

Study material encompassed 62 patients diagnosed and undergoing surgical treatment because of ovarian tumor at the Department of Gynaecological Surgery of K. Marcinkowski Medical University in Poznań. The study extended over the years 2006-2009. Blood samples for assessment of human bFGF were obtained from patients 1-5 days prior to surgery. Serum bFGF level was assessed using ELISA technique (R&D Systems; Human FGF basic DuoSet, catalogue no. DY233). Imaging studies were obtained using a sonographic device (Aloka, model 5500 SSD equipped with 7.5 MHz intravaginal probe). Serum CA-125 level was assessed using an immunoenzymatic test ST (AIA-PACK, OVCA by TOSOH, Japan).

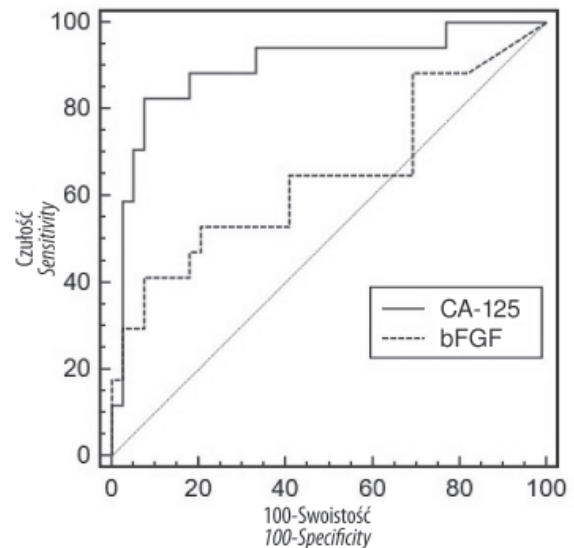
Based on the result of histopathological study of excised tumor, the patients have been subdivided into two groups: those harboring ovarian cancer (n=17) and those with a benign tumor (n=45). Next, mean serum bFGF level in both groups was compared and usefulness of bFGF as a biological marker of ovarian cancer was assessed in relation to CA-125. In the group of women with a diagnosed ovarian cancer, correlations were sought between bFGF level and clinical stage, histological type and grade and tumor size.

Statistical analysis was performed using GraphPad, InStat 3.06 and Statistica 6.0 (StatSoft) software.

RESULTS

Mean age of patients diagnosed with ovarian cancer was 56.7 years (SD±12.4 years), that of patients with benign ovarian tumor – 50.6 years (SD±10.4) and did not differ significantly (p=0.12).

In the group 1, most patients (n=8) were diagnosed with FIGO stage III ovarian cancer. FIGO stages I, II and IV were diagnosed in 3, 4 and 2 patients, respectively.



Rys. 1. Krzywe ROC dla bFGF i CA-125
Fig. 1. ROC curves for bFGF and CA-125

	bFGF (61,24 pg/ml)	CA-125 (58,67 U/ml)
Czułość <i>Sensitivity</i>	47%	82%
Swoistość <i>Specificity</i>	93%	83%
Pozytywna wartość predykcyjna (PPV) <i>Positive predictive value (PPV)</i>	73%	67%
Negatywna wartość predykcyjna (NPV) <i>Negative predictive value (NPV)</i>	82%	92%
Dokładność <i>Accuracy</i>	80%	82%
Pole pod krzywą ROC <i>Area under ROC curve</i>	0,647	0,899

Tabela 1. Wartości czułości, swoistości, pozytywnej wartości predykcyjnej, negatywnej wartości predykcyjnej, dokładności testu oraz pola pod krzywą ROC dla bFGF i CA-125 w prognozowaniu charakteru guza jajnika

Table 1. Sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, accuracy and area under ROC curves for bFGF and CA-125 in predicting ovarian cancer

poziom CA-125 w prezentowanej grupie chorych uzyskał czułość 82%, swoistość – 83%, PPV – 67%, NPV – 92%, AU-ROC – 0,899. Pole pod krzywymi ROC dla CA-125 było istotnie statystycznie wyższe niż dla bFGF ($p=0,011$) (rys. 1, tabela 1). Zarówno w grupie 1., jak i 2. korelacja według Spearmana nie wykazała zależności między stężeniami bFGF a CA-125. Współczynnik korelacji rang Spearmana oraz wartości p dla obu grup przedstawiają się następująco: $R_{\text{Spearman}}=0,129$ i $p=0,58$ oraz $R_{\text{Spearman}}=0,008$ i $p=0,96$.

Mediana oznaczonego surowiczego stężenia bFGF w grupie kobiet z rakiem jajnika w stopniu zaawansowania III i IV według FIGO wyniosła 99,60 pg/ml (95% CI: 37,59-185,04) i była istotnie wyższa niż w I i II stadium zaawansowania choroby (16,29 pg/ml; 95% CI: 4,57-37,78) ($p=0,025$).

W prezentowanej pracy wykazano również różnice w surowiczych stężeniach bFGF między poszczególnymi typami histologicznymi guza ($p=0,0037$). Największe stężenie bFGF występowało w surowicy kobiet z rakiem niezróżnicowanym i gruczolakorakiem jasnokomórkowym, podczas gdy u dwóch kobiet z gruczolakorakiem endometrioidalnym stężenie bFGF było nieoznaczane (tabela 2). Niewielka liczba pacjentek w poszczególnych podgrupach ogranicza istotnie wagę tych obserwacji. Średnie surowicze stężenie bFGF w grupie kobiet ze zmianami typu G1, G2 i G3 wynosiło odpowiednio: 11,78, 46,97 i 73,57 pg/ml. Chociaż obserwuje się tendencję do wzrostu

Median volume of lesion as measured by sonography in group 1 was 433.50 cm³ (95% CI: 202.07-1170.9) and was significantly greater than in group 2 (70.0 cm³; 95% CI: 74.21-196.69; $p=0.0009$). Distribution of histological types of ovarian cancer in group 1 was as follows: serous adenocarcinoma ($n=9$), mucinous adenocarcinoma ($n=4$), endometrioid adenocarcinoma ($n=2$), clear cell adenocarcinoma ($n=1$) and non-differentiated cancer ($n=1$).

Median bFGF serum level in the group of women with ovarian cancer was 40.10 pg/ml (95% CI: 29.17-113.89), while in the group 2 – 20.60 pg/ml (95% CI: 16.33-36.59). Intergroup difference in median serum bFGF level was close to the level of significance ($p=0.068$). At the concentration of 61.24 pg/ml, corresponding to the highest accuracy of the test (ACC 80%), bFGF obtained sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value equal to 47%, 93%, 73%, 82%, respectively, while the area under curve (AU-ROC) was 0.647. By comparison, corresponding values for CA-125 in the study population were: sensitivity – 82%, specificity – 83%, PPV – 67%, NPV – 92% and AU-ROC – 0.899. The AU-ROC value for CA-125 was significantly higher than for bFGF ($p=0.011$) (fig. 1, table 1).

In both groups, Spearman correlation did not show any association between bFGF and CA-125 levels. Spearman rank correlation coefficient and p -value for group 1 are $R=0.129$, $p=0.58$ and for group 2 – $R=0.008$, $p=0.96$.

Typ histologiczny <i>Histological type</i>	bFGF <i>bFGF level</i>
Gruczolakorak surowiczy ($n=9$) <i>Serous adenocarcinoma (n=9)</i>	28,96±30,91
Gruczolakorak śluzowy ($n=4$) <i>Mucinous adenocarcinoma (n=4)</i>	96,96±103,47
Gruczolakorak endometrioidalny ($n=2$) <i>Endometrioid adenocarcinoma (n=2)</i>	0±0,00
Inne (rak jasnokomórkowy, rak niezróżnicowany) ($n=2$) <i>Other types (clear-cell cancer, non-differentiated cancer) (n=2)</i>	212,29±6,65

Tabela 2. Zestawienie typów histologicznych raka jajnika z uzyskanym pomiarem bFGF

Table 2. Correlation of histological tumor types and serum bFGF levels

średniego stężenia bFGF wraz ze wzrostem stopnia złośliwości histologicznej, obliczenia statystyczne nie wykazały istotnych różnic ($p=0,56$).

Zarówno w grupie 1., jak i 2. poziom bFGF nie korelował z objętością guza ocenianą przed operacją za pomocą USG (odpowiednio $R_{\text{Spearman}}=0,17$ i $p=0,56$ oraz $R_{\text{Spearman}}=-0,02$, $p=0,87$).

OMÓWIENIE

Zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (*basic fibroblast growth factor*, bFGF; *fibroblast growth factor 2*, FGF2) był pierwszym odkrytym czynnikiem wzrostu z liczącej dziś 23 białka dużej rodziny FGF⁽³⁾. W zależności od miejsca inicjacji translacji z pierwotnego transkryptytu może powstać wiele izoform bFGF, z których z tkanek najczęściej izolowana jest forma zawierająca 146 aminokwasów (18 kDa)⁽⁴⁾. Czynniki wzrostu z rodziny FGF przekazują sygnały międzykomórkowe za pomocą receptorów FGFR wykazujących aktywność kinazy tyrozynowej⁽⁵⁾. Angiogeneza to proces formowania nowych naczyń krwionośnych na bazie istniejącej sieci naczyniowej. Obecnie powszechnie uważa się, że jest to proces niezbędny dla wzrostu nowotworów litych. bFGF jest jednym z podstawowych czynników proangiogennych, regulującym ten proces niemal na wszystkich jego etapach⁽⁶⁾.

Komórki *endothelium* wielu narządów wykazują ekspresję receptora FGFR1, a w niektórych przypadkach również FGFR2^(7,8). Jak wykazały badania, pobudzenie tych receptorów wywołuje proliferację komórek śródbłonka⁽⁹⁾, a także ich migrację⁽¹⁰⁾ i tworzenie struktur przypominających kapilary⁽¹¹⁾.

Jednym z warunków angiogenezy, jak również naciekania i powstawania przerzutów przez nowotwór złośliwy, jest degradacja przestrzeni pozakomórkowej (*extracellular matrix*, ECM)⁽¹²⁾. bFGF umożliwia ten proces przez indukcję ekspresji szeregu metaloproteinaz (MMP-2, -9)⁽¹³⁾ oraz urokinazowego aktywatora plazminogenu (uPA)⁽¹⁴⁾.

Najbardziej znanym czynnikiem proangiogenym jest naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF). Wyniki licznych badań sugerują silne współdziałanie VEGF i bFGF w procesie naczyniotworzenia⁽⁶⁾.

Rola bFGF w angiogenezie znajduje potwierdzenie w badaniach *in vivo*. W badaniach Fulghama⁽¹⁵⁾ myszy transfekowane wirusowymi wektorami indukującymi wydzielanie bFGF wykazywały znaczną odpowiedź angiogenną.

bFGF oprócz stymulacji angiogenezy spełnia również funkcję mitogenną. Di Blasio i wsp.⁽¹⁶⁾ wykazali, że komórki raka jajnika produkują bFGF, a zablokowanie działania układu FGF-FGFR hamuje proliferację komórek. Do podobnych wniosków doszli Crickard i wsp.⁽¹⁷⁾, którzy dodając bFGF do hodowli komórkowej raka jajnika, wykazali statystycznie istotny wzrost liczby komórek.

Dotychczas tylko nieliczne badania koncentrowały się na pomiarze stężenia krążącego bFGF u kobiet chorych na raka jajnika. Celem badania Le Page i wsp.⁽¹⁸⁾ była ocena roli bFGF i IL-18 jako biomarkerów raka jajnika. W cytowanym badaniu autorzy uzyskali istotnie wyższe stężenia bFGF u kobiet z rakiem jajnika niż w grupie kontrolnej. Czułość bFGF

Median of serum bFGF level in the group of women at FIGO stage III and IV ovarian cancer was 99.60 pg/ml (95% CI: 37.59-185.04) and was significantly higher than in those at FIGO stage I and II (16.29 pg/ml; 95% CI: 4.57-37.78) ($p=0,025$).

There were also differences in serum bFGF level between particular histological types of ovarian cancer ($p=0,0037$). Most elevated bFGF level was noticed in the serum of women harboring non-differentiated and clear-cell cancer, while in two women with endometrioid cancer, the bFGF level was undetectable (table 2). Low number of patients in particular subgroups significantly reduces the reliability of these observations.

Mean serum bFGF level in women with G1, G2 and G3 lesions was 11.78 pg/ml, 46.97 pg/ml and 73.57 pg/ml, respectively. In spite of a visible trend towards increased mean serum bFGF level with increasing grade of histological malignancy, statistical calculations did not show significant differences ($p=0,56$). Neither in groups 1 and 2, serum bFGF level did not correlate with tumor volume, as assessed prior to surgery by sonographic study (Spearman coefficient $R=0,17$, $p=0,56$ and $R=-0,02$, $p=0,87$, respectively).

DISCUSSION

Basic fibroblast growth factor (bFGF, FGF2) was the first discovered member of a large FGF family of growth factors, currently known to include 23 different proteins⁽³⁾. Depending on the locus of initiation of translation of primary transcript, several isoforms of bFGF may be produced, thereof most often isolated from tissues is the isoform containing 146 amino acids (18 kDa)⁽⁴⁾. Growth factors from the FGF family participate in transmission of intercellular signals via the FGFR receptors showing activity of tyrosine kinase⁽⁵⁾.

Angiogenesis is a process of formation of new blood vessels based on the existing vascular network. This process is currently believed crucial for the development of solid tumors. bFGF is one of key proangiogenic factors, controlling this process at nearly all its phases⁽⁶⁾.

Endothelial cells of several organs show expression of the FGFR1 receptor and, in some cases, also of the FGFR2 receptor^(7,8). Recent studies indicate that stimulation of these receptors results in proliferation of endothelial cells⁽⁹⁾, their migration⁽¹⁰⁾ and formation of capillary-like structures⁽¹¹⁾.

One of preconditions of angiogenesis, as well as infiltration and formation of metastases by a malignant neoplasm, is degradation of extracellular matrix (ECM)⁽¹²⁾. bFGF enables this by induction of expression of several metalloproteinases (MMP-2, -9)⁽¹³⁾ and urokinase plasminogen activator (uPA)⁽¹⁴⁾.

The best-known proangiogenic factor is the vascular endothelial growth factor (VEGF). Results of several studies suggest a close synergy of VEGF and bFGF in the angiogenic process⁽⁶⁾.

The role of bFGF in angiogenesis was confirmed by *in vivo* studies. In the study by Filgham⁽¹⁵⁾, mice transfected with viral vectors inducing secretion of bFGF showed an enhanced angiogenic response.

Apart of stimulation of angiogenesis, bFGF also plays a mitogenic role. Di Blasio et al.⁽¹⁶⁾ demonstrated that ovarian cancer cells

w prognozowaniu występowania raka jajnika wynosiła 58% i była niższa niż w przypadku CA-125 (82%). Z drugiej strony badanie stężenia bFGF charakteryzowało się wyższą swoistością (72 vs 60%). Wyniki naszej pracy sugerują, że bFGF jest niezależnym wobec CA-125 czynnikiem prognostycznym występowania raka jajnika, jednak użyteczność pomiarów bFGF w praktyce klinicznej wymaga dalszych badań.

Na wysoką swoistość bFGF wskazują również badania Barton a i wsp.⁽¹⁹⁾, którzy wykazali, że jedynie u 7,7% kobiet z zaawansowanym rakiem jajnika można oznaczyć prawidłowy poziom bFGF. W przypadku VEGF i ANG ten sam odsetek wynosił odpowiednio 38,9 i 15,3% kobiet. W prezentowanej pracy również uzyskano wysoką swoistość, równą 93%, jednak jak wskazują pozostałe wyniki, surowiczy poziom bFGF jest ściśle związany z typem histologicznym guza.

Zhang i wsp.⁽¹⁹⁾ wykazali silniejszą ekspresję mRNA dla bFGF w tkankach raka jajnika w porównaniu z grupą kontrolną, złożoną z tkanek pobranych od kobiet z niezłośliwymi guzami jajnika i wycinkami prawidłowych jajników. Wyniki naszego badania wskazały na bliską granicy istotności statystycznej różnicę w stężeniach bFGF w surowicy w badanych grupach. Prawdopodobnie nieuzyskanie istotnej różnicy wynika z faktu niewielkiej liczby pacjentek uczestniczących w badaniu.

W cytowanym już badaniu Le Page i wsp.⁽¹⁸⁾ stężenie bFGF dodatnio korelowało ze stopniem zróżnicowania nowotworu, natomiast nie wykazywało korelacji ze stopniem zaawansowania choroby. Prezentowana praca dostarcza innych wyników, podobnie jak badania Zhang i wsp.⁽¹⁹⁾, którzy stwierdzili istotne różnice w ekspresji bFGF mRNA między I i II a III i IV stopniem zaawansowania choroby, natomiast nie wykazali istotnych różnic między poszczególnymi stopniami złośliwości histologicznej raka jajnika ani jego typami histopatologicznymi. W kolejnej pracy, Obermaira i wsp.⁽²⁰⁾, autorzy nie wykazali żadnej korelacji między stężeniem bFGF w cytozolu komórek raka jajnika a stopniem zaawansowania choroby, stopniem zróżnicowania, typem histopatologicznym ani obecnością wodobrzusza. Interesujący jest z kolei związek między wysokim stężeniem bFGF w cytozolu komórek raka a korzystnym rokowaniem. Podobne wyniki uzyskali Yiangou i wsp.⁽²¹⁾, badając komórki raka piersi. Trudno jest jednak obecnie wyjaśnić ten fakt, być może wynika on z istnienia różnych form bFGF produkowanych w komórkach raka oraz ich różnej lokalizacji^(4,20).

WNIOSKI

1. W grupie kobiet z nowotworami złośliwymi jajnika surowicze stężenie bFGF jest wyższe niż u kobiet z guzami niezłośliwymi, a różnice te są bliskie istotności statystycznej.
2. Stężenie bFGF w zaawansowanych stopniach klinicznych raka jest istotnie statystycznie wyższe niż we wczesnych stadiach według FIGO.
3. bFGF może być cennym uzupełnieniem diagnostyki przedoperacyjnej u kobiet ze złośliwymi guzami jajnika.

produce bFGF, while blockade of the FGF-FGFR system inhibits cellular proliferation. Similar conclusions were reached by Crickard et al.⁽¹⁷⁾, who added bFGF to cultured ovarian cancer cells and obtained a significant increase of cellular proliferation rate.

To date, only few studies focused on measurement of serum bFGF in women affected with ovarian cancer. The aim of a study by Le Page et al.⁽¹⁸⁾ was to assess the role of bFGF and IL-18 as biological markers of ovarian cancer. The authors of this study noticed significantly higher bFGF levels in women with ovarian cancer than in the control group. Sensitivity of bFGF in forecasting the course of ovarian cancer was 58% and was inferior to that of CA-125 (82%). On the other hand, assessment of serum bFGF was characterized by higher specificity (72% vs. 60%). Results of our study suggest that bFGF is a prognostic factor independent from CA-125, although the usefulness of bFGF testing in clinical practice requires further studies.

High specificity of bFGF is confirmed by studies by Barton et al.⁽¹⁹⁾, who demonstrated that only 7.7% of women with late-stage ovarian cancer may have normal bFGF level. In the case of VEGF and ANG, corresponding values were 38.9% and 15.3%, respectively. In the present paper, high specificity has been obtained too (93%), but, as other results indicate, serum bFGF level is closely correlated with histological type of tumor. Zhang et al.⁽¹⁹⁾ have shown stronger expression of mRNA for bFGF in ovarian tumor tissue as compared with control group, consisting of tissues obtained from women with low-grade ovarian tumors and samples of normal ovaries. Also our results indicate a difference approaching the level of significance in serum bFGF level between study groups. Most probably, our inability to reach statistical significance results from a limited number of patients participating in the study.

In the already quoted study by Le Page et al.⁽¹⁸⁾, bFGF level correlated positively with level of differentiation of the neoplasm, but there was no correlation with clinical stage of the disease. Our results confirm those by Zhang et al.⁽¹⁹⁾, showing significant differences in bFGF mRNA expression between early and late clinical stages (I/II and III/IV), while no such differences have been noticed between particular grades of histological malignancy or histological tumor types. In another paper by Obermair et al.⁽²⁰⁾, the authors did not notice any correlation between bFGF level in ovarian cancer cell cytosol and clinical stage of the disease, degree of differentiation, histological type and presence of ascites. Noteworthy finding is an association between bFGF level in cancer cell cytosol and favorable prognosis. Similar results were reported by Yiangou et al.⁽²¹⁾, who studied breast cancer cells. Explanation of this fact is at present difficult; it may be due to several different forms of bFGF produced by cancer cells and their different localization^(4,20).

CONCLUSIONS

1. In the group of women with malignant ovarian cancer, serum bFGF level is higher than in women with benign tumors and the difference approaches statistical significance.
2. In late-stage ovarian cancer, bFGF level is significantly higher than in early clinical stages.
3. bFGF may be a valuable adjunct to preoperative diagnosis of women with malignant ovarian tumors.

PIŚMIENNICTWO:
BIBLIOGRAPHY:

1. Wojciechowska U., Didkowska J., Zatoński W.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2006 roku. Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa 2008. Adres: <http://www.onkologia.org.pl/doc/Biuletyn2006.pdf>.
2. National Cancer Institute. Adres: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2006/browse_csr.php?section=21&page=sect_21_table.07.html.
3. Javerzat S., Auguste P., Bikfalvi A.: The role of fibroblast growth factors in vascular development. *Trends Mol. Med.* 2002; 8: 483-489.
4. Bugler B., Amalric F., Prats H.: Alternative initiation of translation determines cytoplasmic or nuclear localization of basic fibroblast growth factor. *Mol. Cell. Biol.* 1991; 11: 573-577.
5. Jaye M., Schlessinger J., Dionne C.A.: Fibroblast growth factor receptor tyrosine kinases: molecular analysis and signal transduction. *Biochim. Biophys. Acta* 1992; 1135: 185-199.
6. Presta M., Dell’Era P., Mitola S. i wsp.: Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005; 16: 159-178.
7. Bastaki M., Nelli E.E., Dell’Era P. i wsp.: Basic fibroblast growth factor-induced angiogenic phenotype in mouse endothelium. A study of aortic and microvascular endothelial cell lines. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 454-464.
8. Nakamura T., Mochizuki Y., Kanetake H., Kanda S.: Signals via FGF receptor 2 regulate migration of endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 289: 801-806.
9. Kanda S., Landgren E., Ljungström M., Claesson-Welsh L.: Fibroblast growth factor receptor 1-induced differentiation of endothelial cell line established from tsA58 large T transgenic mice. *Cell Growth Differ.* 1996; 7: 383-395.
10. Stokes C.L., Rupnick M.A., Williams S.K., Lauffenburger D.A.: Chemotaxis of human microvessel endothelial cells in response to acidic fibroblast growth factor. *Lab. Invest.* 1990; 63: 657-668.
11. Montesano R., Orci L., Vassalli P.: In vitro rapid organization of endothelial cells into capillary-like networks is promoted by collagen matrices. *J. Cell Biol.* 1983; 97: 1648-1652.
12. Hojilla C.V., Mohammed F.F., Khokha R.: Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors direct cell fate during cancer development. *Br. J. Cancer* 2003; 89: 1817-1821.
13. Taraboletti G., D’Ascenzo S., Borsotti P. i wsp.: Shedding of the matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, and MT1-MMP as membrane vesicle-associated components by endothelial cells. *Am. J. Pathol.* 2002; 160: 673-680.
14. Roghani M., Mohammadi M., Schlessinger J., Moscatelli D.: Induction of urokinase-type plasminogen activator by fibroblast growth factor (FGF)-2 is dependent on expression of FGF receptors and does not require activation of phospholipase C γ 1. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 31154-31159.
15. Fulgham D.L., Widhalm S.R., Martin S., Coffin J.D.: FGF-2 dependent angiogenesis is a latent phenotype in basic fibroblast growth factor transgenic mice. *Endothelium* 1999; 6: 185-195.
16. Di Blasio A.M., Cremonesi L., Viganó P. i wsp.: Basic fibroblast growth factor and its receptor messenger ribonucleic acids are expressed in human ovarian epithelial neoplasms. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1993; 169: 1517-1523.
17. Crickard K., Gross J.L., Crickard U. i wsp.: Basic fibroblast growth factor and receptor expression in human ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 1994; 55: 277-284.
18. Le Page C., Ouellet V., Madore J. i wsp.: From gene profiling to diagnostic markers: IL-18 and FGF-2 complement CA-125 as serum-based markers in epithelial ovarian cancer. *Int. J. Cancer* 2006; 118: 1750-1758.
19. Zhang Y., Guo K.J., Shang H. i wsp.: Expression of aFGF, bFGF, and FGFR1 in ovarian epithelial neoplasm. *Chin. Med. J. (Engl.)* 2004; 117: 601-603.
20. Obermair A., Speiser P., Reisenberger K. i wsp.: Influence of intratumoral basic fibroblast growth factor concentration on survival in ovarian cancer patients. *Cancer Lett.* 1998; 130: 69-76.
21. Yiangou C., Gomm J.J., Coope R.C. i wsp.: Fibroblast growth factor 2 in breast cancer: occurrence and prognostic significance. *Br. J. Cancer* 1997; 75: 28-33.