



# Сравнительный анализ содержания фактора роста эндотелия сосудов, инсулиноподобного фактора роста 1 и матриксной металлопротеиназы 7 в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников

Плиева Я.З.<sup>1</sup> • Ермилова В.Д.<sup>2</sup> • Терешкина И.В.<sup>1</sup> • Кушлинский Д.Н.<sup>3</sup> • Шелепова В.М.<sup>2</sup> • Уткин Д.О.<sup>1</sup> • Хохлова С.В.<sup>2</sup> • Дворова Е.К.<sup>2</sup> • Паяниди Ю.Г.<sup>2</sup> • Жордания К.И.<sup>2</sup>

**Цель** – провести сравнительный анализ одновременного определения фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), инсулиноподобного фактора роста 1-го типа (ИФР-1) и матриксной металлопротеиназы 7-го типа (ММП-7) в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком яичников, определить связь этих маркеров с их экспрессией в первичных опухолях с учетом клинических, морфологических и биохимических характеристик заболевания и прогноза. **Материал и методы.** Обследовали 54 нелеченых больных раком яичников в возрасте от 23 до 74 лет (средний возраст  $53,2 \pm 1,9$  года) в различных стадиях опухолевого процесса (по FIGO). Контрольную группу составили 120 здоровых женщин соответствующего возраста и репродуктивного статуса, у которых изучали концентрации маркеров в сыворотке крови. Выживаемость пациенток оценивали по методу Каплана – Мейера, сравнение кривых выживаемости рассчитывали с помощью Log-Rank test. Все вычисления проводили на персональном компьютере с использованием математических пакетов STATISTICA и SPSS. **Результаты.** Уровни VEGF в сыворотке крови больных раком яичников были статистически значимо ( $p < 0,0001$ ) выше по сравнению с контролем. Наиболее информативными уровнями, разделяющими изучаемые группы, были значения сывороточного VEGF менее 350 пг/мл (медиана показателя в контроле) и более 505 пг/мл (верхняя квартиль показателя в контроле). Чувствительность теста по порогу 505 пг/мл равнялась 79,6%, специфичность 75%. Еще одним разделяющим уровнем сывороточного VEGF в группах больных раком яичников и контроля было значение маркера, полученное с помощью построения кривых ROC и равное 510 пг/мл, его диагностические характеристики составили: чувствительность 75%, специфичность 78,2%. Приемлемого разделяющего уровня сывороточного ИФР-1 в группах больных раком яичников и контроля,

полученного с помощью построения кривых ROC, не найдено. Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников было статистически значимо (критерий Манна – Уитни,  $p < 0,0001$ ) выше по сравнению с контролем. С помощью построения кривых ROC получено наилучшее соотношение чувствительности и специфичности при разделении групп больных раком яичников и контроля по уровню сывороточного ММП-7, равного 4,6 нг/мл (чувствительность 83,3%, специфичность 81%). Дисперсионный анализ не выявил связи сывороточных показателей VEGF, ИФР-1 и ММП-7 с возрастом больных раком яичников, гистологическим строением опухоли, с сопутствующими соматическими и гинекологическими заболеваниями, с уровнями СА-125. Показатели сывороточного VEGF и ИФР-1 не отражали стадию рака яичников, в отличие от ММП-7, уровни которого были статистически значимо выше при IIIc–IV стадиях. Медиана VEGF повышалась по мере снижения степени дифференцировки с 510 до 622 пг/мл ( $p < 0,002$ ), а ИФР-1, наоборот, снижалась с 219 до 116 пг/мл ( $p < 0,0001$ ). Обнаружена прямая корреляционная зависимость между содержанием VEGF в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,0001$ ). Для ИФР-1, напротив, отмечена обратная корреляционная зависимость между уровнем маркера в сыворотке крови и опухоли больных ( $r = -0,68$ ;  $p < 0,0001$ ). Уровни ММП-7 в сыворотке крови и опухоли не были связаны между собой. Содержание VEGF, ИФР-1 и ММП-7 в опухоли не было связано с возрастом пациенток, репродуктивным статусом, наличием сопутствующих соматических и гинекологических заболеваний, гистологическим строением рака яичников, уровнями сывороточного СА-125. Уровни VEGF в опухоли не были связаны со стадией рака яичников, однако статистически значимые низкие значения ММП-7 обнаружены у больных с начальными Ia и Ib стадиями (2,1 нг/мл белка)

по сравнению с IIIc и IV стадиями (6,1 и 4,7 нг/мл белка соответственно;  $p < 0,05$ ). Подобная закономерность отмечена и для ИФР-1: установлены статистически значимые низкие значения ИФР-1 в опухоли больных с Ia–Ib стадиями (0,5 нг/мл белка) по сравнению с IIIc–IV стадиями (медиана 1,3–1,4 нг/мл белка). Выявлено значимое повышение VEGF как в сыворотке крови, так и опухоли больных раком яичников при снижении степени дифференцировки. Уровни ИФР-1 в опухоли, в отличие от сыворотки крови, статистически значимо повышались с 0,6 до 1,4 нг/мл у пациенток с низкой степенью дифференцировки рака яичников. Показатели экспрессии ММП-7 в опухоли не зависели от степени ее дифференцировки. Уровни сывороточного VEGF более 700 пг/мл, а в ткани опухоли более 590 нг/мл белка следует считать неблагоприятными факторами прогноза у больных раком яичников.

**Ключевые слова:** рак яичников, фактор роста эндотелия сосудов, инсулиноподобный фактор роста 1, матриксная металлопротеиназа 7

**Для цитирования:** Плиева ЯЗ, Ермилова ВД, Терешкина ИВ, Кушлинский ДН, Шелепова ВМ, Уткин ДО, Хохлова СВ, Дворова ЕК, Паяниди ЮГ, Жордания КИ. Сравнительный анализ содержания фактора роста эндотелия сосудов, инсулиноподобного фактора роста 1 и матриксной металлопротеиназы 7 в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников. Альманах клинической медицины. 2017;45(8):616–27. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-8-616-627.

Поступила 20.08.2017;  
принята к публикации 21.11.2017



**Р**ак яичников – одна из наиболее агрессивных опухолей женской репродуктивной системы. У большинства больных заболевание диагностируется на поздних стадиях, когда опухолевый процесс уже распространен по брюшине. Трудности ранней диагностики, высокий метастатический и инвазивный потенциал рака яичников определяют необходимость углубленного изучения механизмов роста и распространения опухоли. Эти знания могли бы стать основой для выбора метода лечения, прогнозирования его результатов, а также включения в схемы препаратов, целенаправленно воздействующих на регуляторные молекулы [1].

Как известно, важную роль в возникновении и прогрессии злокачественных новообразований играют сигнальные системы ангиогенных [2, 3] и инсулиноподобных факторов роста [4–6], а в механизмах инвазии задействованы матриксные металлопротеиназы [7–13]. Ключевые представители вышеуказанных систем – фактор роста эндотелия сосудов (англ. vascular endothelial growth factor – VEGF) [14, 15], инсулиноподобный фактор роста 1-го типа (ИФР-1) [16, 17] и матриксную металлопротеиназу 7-го типа (ММП-7) [18–20] – активно изучают в последнее десятилетие. Показано, что их могут продуцировать клетки различных опухолей человека и в ряде случаев могут служить ауто/паракринными медиаторами, опосредующими рост, метастазирование и антиапоптотические ответы опухольтрансформированных клеток [19, 21–24]. VEGF, ИФР-1 и ММП-7 изучают как факторы риска развития рака яичников [25–27], возможные биологические маркеры в диагностике и оценке чувствительности опухолей к лекарственной терапии, а также в прогнозе заболевания [6, 28, 29]. При этом следует отметить, что VEGF, ИФР-1 и ММП-7 образуют сложную сеть взаимодействий как между собой, так и с другими биологическими регуляторами роста и выживаемости опухолевых клеток.

Кроме того, пристальный интерес исследователей к этим биологическим мишеням связан с возможностью использования специфических целенаправленных («таргетных») ингибиторов для подавления их активности при различных опухолях, в том числе и раке яичников [30, 31].

**Плиева Яна Зурабовна** – соискатель, кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики<sup>1</sup>  
✉ 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20–1, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (499) 324 11 59.  
E-mail: biochimia@yandex.ru

**Ермилова Валерия Дмитриевна** – канд. мед. наук, вед. науч. сотр., отдел патологической анатомии опухолей человека<sup>2</sup>

**Терешкина Ирина Владимировна** – канд. мед. наук, гинеколог, соискатель, кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики<sup>1</sup>

**Кушлинский Дмитрий Николаевич** – канд. мед. наук, онкогинеколог, отделение комбинированных методов лечения<sup>3</sup>

**Шелепова Валентина Михайловна** – канд. мед. наук, вед. науч. сотр., лаборатория онкоиммунологии<sup>2</sup>

**Уткин Дмитрий Олегович** – соискатель, кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики<sup>1</sup>

**Хохлова Светлана Викторовна** – д-р мед. наук, ст. науч. сотр., отделение химиотерапии<sup>2</sup>

**Дворова Елена Кузьминична** – инженер-статистик<sup>2</sup>

**Паяниди Юлия Геннадиевна** – д-р мед. наук, профессор, отделение онкогинекологии<sup>2</sup>

**Жордания Кирилл Иосифович** – д-р мед. наук, профессор, отделение онкогинекологии<sup>2</sup>

Цель настоящего исследования – провести сравнительный анализ одновременного определения VEGF, ИФР-1, ММП-7 в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком яичников, определить связь этих маркеров с их экспрессией в первичных опухолях с учетом клинических, морфологических и биохимических характеристик заболевания и прогноза.

## Материал и методы

Обследовали 54 нелеченых больных раком яичников в возрасте от 23 до 74 лет (средний возраст 53,2 ± 1,9 года) в различных стадиях опухолевого процесса (по FIGO): стадия Ia была у 4 (7,4%) пациенток, Ib – 1 (1,8%), Ic – 9 (16,7%), IIa – 3 (5,6%), IIb – 2 (3,7%), IIIa – 2 (3,7%), IIIb – 2 (3,7%), IIIc – 23 (42,6%), IV – 8 (14,8%). В репродуктивном возрасте были 26 (48,2%) больных раком яичников, в постменопаузе – 23 (42,6%), у 5 (9,2%) отмечена дисменорея.

Группу контроля составили 120 практически здоровых женщин соответствующего возраста.

Преобладали больные раком яичников без других сопутствующих гинекологических заболеваний – 39 (72,2%). У 15 из 54 пациенток обнаружены сопутствующие гинекологические заболевания: миома матки – 8 (14,8%), киста яичников – 4 (7,4%), бесплодие – 2 (3,7%), в 1 случае выявлена дисфункция яичников.

У всех больных клинический диагноз рака яичников подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно гистологической классификации опухолей женских репродуктивных органов (Всемирная организация здравоохранения, 2014). Серозный рак яичников диагностирован у 35 (64,8%) больных, муцинозный – 5 (9,2%), эндометриоидный – 6 (11,1%), светлоклеточный – 3 (5,6%), редкие варианты – 5 (9,3%).

Диссеминация по брюшине была у 39 (72,2%) больных раком яичников, асцит обнаружен у 19 (35,2%) пациенток. Опухолевые клетки в смывах из брюшной полости выявлены у 37 из 49 (75,5%) больных.

У большинства больных раком яичников – 34 (63%) – проведено хирургическое удаление опухоли с последующей адъювантной химиотерапией; 4 (7,4%) пациенткам выполнено только хирургическое удаление опухоли; 5 (9,3%) проведена

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России; 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20–1, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

<sup>3</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России; 117997, г. Москва, ул. академика Опарина, 4, Российская Федерация



неoadъювантная полихимиотерапия с последующим хирургическим удалением опухоли; 3 (5,6%) больным выполнена операция и проведена неoadъювантная и адъювантная полихимиотерапия; 8 (14,8%) пациенткам выполнена операция и проведены полихимиотерапия и лучевое лечение.

Отдаленные результаты лечения за 5-летний срок наблюдения оценены у 48 из 54 больных раком яичников, прослеженность составила 88,9%.

Содержание маркеров в образцах сыворотки крови и экстрактах первичных опухолей определяли у 54 больных раком яичников с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа: VEGF “Human VEGF Immunoassay”, ИФР-1 “Mediagnost” (Германия), ММП-7 “Quantikine” (“R&D Systems”, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия).

Концентрацию опухолевого маркера СА-125 определяли иммуноферментным методом (ELISA) в сыворотке крови с помощью реактивов фирмы Roche (Швейцария). Измерения проводили на электрохемилюминесцентном анализаторе ЕС-300 фирмы Roche.

*Статистический анализ результатов исследования.* Выбор основных характеристик и статистических критериев при их сравнении осуществляли после изучения распределения признака и его сравнения с распределением Гаусса по критерию Колмогорова – Смирнова. Для признаков VEGF, ИФР-1, ММП-7 с распределением, значимо отличающимся от нормального, рассчитывали медиану, квартили, 95% доверительный интервал и применяли непараметрические методы сравнения несвязанных признаков – дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса и медианный критерий (Kruskal-Wallis Anova & Median test) при количестве сравниваемых групп более двух и критерий Манна – Уитни (Mann-Whitney) при сопоставлении двух групп. Для связанных значений применяли критерий Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). При сравнении малых выборок рассчитывали точное значение *p*. При сравнении частот строили таблицы сопряженности признаков. Для расчета *p* использовали точный критерий Фишера (при небольших объемах групп) и непараметрический критерий  $\chi^2$ . Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Проводили корреляционный анализ (с помощью критерия Пирсона (Pearson), для непараметрических данных – Спирмана (Spearman)) с расчетом коэффициента корреляции и уровня его

значимости. Выживаемость оценивали по методу Каплана – Мейера (Kaplan-Meier) с расчетом ее стандартной ошибки, сравнение кривых выживаемости рассчитывали с помощью логрангового теста (Log-Rank test).

При выборе статистических процедур учитывали методологические требования Международного конгресса по гармонизации GCP «Статистические принципы для клинических исследований» (ICH Guidelines, 1998). Все вычисления проводили на персональном компьютере с помощью математических пакетов STATISTICA и SPSS в отделе информационных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

## Результаты

Анализ сывороточных и тканевых показателей VEGF, ИФР-1 и ММП-7

Провели сравнительный анализ данных по содержанию VEGF, ИФР-1 и ММП-7 в сыворотке крови

**Таблица 1.** Содержание VEGF, ИФР-1, ММП-7 в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников, а также у здоровых женщин группы контроля

Маркер	Группа	N	Значение <i>p</i>		
				пределы колебания	медиана; квартили 95% ДИ
VEGF в сыворотке крови, пг/мл					
77,4–1270	Контроль	120	< 0,0001	350; 215–505	120–866
349–1289	Рак яичников	54		606; 540–745	370–1200
VEGF в опухоли, нг/мг белка					
41–1804	Рак яичников	54		335; 156–590	75–1398
ИФР-1 в сыворотке крови, нг/мл					
38,5–232	Контроль	48	0,0003	110; 83,1–135	63,2–181
65–250	Рак яичников	49		136; 110–198	75–245
ИФР-1 в опухоли, нг/мг белка					
0,3–2	Рак яичников	49		1,2; 0,7–1,5	0,5–1,8
ММП-7 в сыворотке крови, нг/мл					
2–9	Контроль	21	< 0,0001	3,8; 3,1–4,5	2,4–5
2,5–50,6	Рак яичников	54		8; 5,1–14,7	3,4–43,6
ММП-7 в опухоли, нг/мг белка					
0–51,8	Рак яичников	49		3,3; 1,1–8,5	0,02–14

ДИ – доверительный интервал



и экстрактах опухоли больных раком яичников. Вышеуказанные маркеры в сыворотке крови у больных сравнивали с аналогичными показателями у здоровых женщин, составивших группу контроля (табл. 1).

Установлено, что уровни VEGF в сыворотке крови больных раком яичников колебались в довольно широких пределах и были статистически значимо выше по сравнению с аналогичными показателями у здоровых женщин группы контроля ( $p < 0,0001$ ). Наиболее информативными уровнями, разделяющими изучаемые группы, были значения сывороточного VEGF менее 350 пг/мл (медиана показателя в контроле) и более 505 пг/мл (верхняя квартиль показателя в контроле). Чувствительность теста по порогу 505 пг/мл равнялась 79,6%, специфичность – 75%. Отметим: при выявлении уровней сывороточного VEGF менее 350 пг/мл рак яичников был маловероятен. Еще одним разделяющим уровнем сывороточного VEGF в группах больных раком яичников и контроля было значение маркера, полученное с помощью построения кривых ROC и равное 510 пг/мл. Его диагностические характеристики составили: чувствительность 75%, специфичность 78,2%. Таким образом, за пороговое значение сывороточного VEGF, разделяющее класс больных раком яичников и группу контроля, можно применять уровень маркера 505–510 пг/мл.

Содержание ИФР-1 в сыворотке крови больных раком яичников было статистически значимо выше по сравнению с таковым у практически здоровых женщин ( $p = 0,0003$ ). Распределения ИФР-1 в сравниваемых группах перекрывались, а чувствительность теста по порогу 135 нг/мл равнялась 49% при специфичности 75%. Следовательно, показатель ИФР-1 не обладает приемлемой диагностической ценностью при разделении групп больных раком яичников и практически здоровых женщин. Приемлемого разделяющего уровня сывороточного ИФР-1 в группах больных раком яичников и контроля, полученного с помощью построения кривых ROC, не найдено.

Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников колебалось в широких пределах и было статистически значимо выше (критерий Манна – Уитни,  $p < 0,0001$ ) по сравнению с таковым в группе контроля. С помощью построения кривых ROC получено наилучшее соотношение чувствительности и специфичности при разделении групп больных раком яичников и контроля по уровню сывороточного ММП-7 4,6 нг/мл (чувствительность 83,3%,

специфичность 81%). В дальнейшем применяли пороговое значение ММП-7, равное 5 нг/мл.

Дисперсионный анализ не выявил связи показателей VEGF, ИФР-1 и ММП-7 с возрастом больных раком яичников.

Не различались сывороточные уровни VEGF между группами больных раком яичников с сохраненной репродуктивной функцией (609 пг/мл) и в постменопаузе (608 пг/мл), как и содержание ИФР-1 (123 и 136 нг/мл соответственно) и ММП-7 (9,5 и 7,4 нг/мл соответственно).

**Таблица 2.** Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников в зависимости от стадии заболевания

Стадия	N	ММП-7 в сыворотке крови, нг/мл		Частота значений ММП-7 $\geq$ 5 нг/мл, абс. (%)
		медиана	квартили	
Ia–Ib <sup>[1]</sup>	5	3,5	3,4–5,5	2 (40)
Ic <sup>[2]</sup>	9	6,7	4,6–8	6 (66,7)
IIa–IIb <sup>[3]</sup>	5	6,4	3,7–9,2	2 (40)
IIIa–IIIb <sup>[4]</sup>	4	5,1	4,2–8,5	2 (50)
IIIc <sup>[5]</sup>	23	11,4	7,4–21	22 (95,7)
IV <sup>[6]</sup>	8	11,2	8,1–43,4	8 (100)
Значение $p$		<sup>[1], [2], [3], [4]</sup> vs <sup>[5], [6]</sup> $< 0,05$		0,008

**Таблица 3.** Содержание VEGF в сыворотке крови больных раком яичников в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Степень дифференцировки опухоли	N	VEGF в сыворотке крови, пг/мг белка		Частота значений VEGF $\geq$ 505 пг/мл, абс. (%)
		медиана	квартили	
Low Grade	15	510	446–609	8 (53,3)
High Grade	34	622	590–834	34 (100)
Значение $p$		0,002		$< 0,0001$

**Таблица 4.** Содержание ИФР-1 в сыворотке крови больных раком яичников в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Степень дифференцировки опухоли	N	ИФР-1 в сыворотке крови, нг/мл		Частота значений ИФР-1 $\geq$ 135 нг/мл, абс. (%)
		медиана	квартили	
Low Grade <sup>[1]</sup>	15	219	198–245	15 (100)
High Grade <sup>[2]</sup>	15	116	99–143	10 (29,4)
Значение $p$		<sup>[1]</sup> vs <sup>[2]</sup> $< 0,0001$		<sup>[1]</sup> vs <sup>[2]</sup> $< 0,0001$

**Таблица 5.** Содержание ММП-7 в опухоли больных раком яичников в зависимости от стадии заболевания

Стадия	N	ММП-7 в опухоли, нг/мг белка		Частота значений ММП-7 $\geq 8,5$ нг/мг белка, абс. (%)
		медиана	квартили	
Ia–Ib <sup>[1]</sup>	5	2,1	0,2–3,7	1 (20)
Ic <sup>[2]</sup>	9	6,3	4–11,3	3 (33,3)
IIa–IIb <sup>[3]</sup>	5	1,1	0,3–2,1	0
IIIa–IIIb <sup>[4]</sup>	4	1,4	0,8–2,1	0
IIIc <sup>[5]</sup>	23	6,1	1,6–8,5	5 (21,7)
IV <sup>[6]</sup>	8	4,7	1–11,2	3 (37,5)
Значение <i>p</i>		<sup>[1]</sup> vs <sup>[2]</sup> < 0,044; <sup>[2]</sup> vs <sup>[3], [4]</sup> < 0,05		0,55

**Таблица 6.** Содержание ИФР-1 в опухоли больных раком яичников в зависимости от стадии заболевания

Стадия	N	ИФР-1 в опухоли, нг/мг белка		Частота значений ИФР-1 $\geq 1,5$ нг/мг белка, абс. (%)
		медиана	квартили	
Ia–Ib <sup>[1]</sup>	4	0,5	0,4–0,6	0
Ic <sup>[2]</sup>	7	1,1	0,8–1,6	2 (28,6)
IIa–IIb <sup>[3]</sup>	3	1,2	0,9–1,5	1 (33,3)
IIIa–IIIb <sup>[4]</sup>	4	0,9	0,7–1,4	1 (25)
IIIc <sup>[5]</sup>	23	1,3	0,8–1,5	6 (26,1)
IV <sup>[6]</sup>	8	1,4	1–1,6	3 (37,5)
Значение <i>p</i>		<sup>[1]</sup> vs <sup>[2], [5], [6]</sup> < 0,05		0,7

**Таблица 7.** Содержание VEGF в опухоли больных раком яичников в зависимости от степени ее дифференцировки

Степень дифференцировки опухоли	N	VEGF в опухоли, нг/мг белка		Частота значений VEGF $\geq 590$ нг/мг белка, абс. (%)
		медиана	квартили	
Low Grade <sup>[1]</sup>	15	164	134–201	1 (6,7)
High Grade <sup>[2]</sup>	34	545	329–858	34 (100)
Значение <i>p</i>		<sup>[1]</sup> vs <sup>[2]</sup> < 0,01		<sup>[1]</sup> vs <sup>[2]</sup> < 0,016

Не выявлено статистически значимых различий в содержании VEGF, ИФР-1, ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников с различными сопутствующими соматическими и гинекологическими заболеваниями.

Не установлено статистически значимой корреляционной зависимости между содержанием VEGF, ИФР-1, ММП-7 и СА-125 в сыворотке крови больных раком яичников.

Показатели сывороточного VEGF и ИФР-1 не отражали стадию рака яичников. Уровни ММП-7 были значимо выше при IIIc–IV стадиях (табл. 2).

В отличие от ММП-7, обнаружены статистически значимые различия концентраций сывороточного VEGF и ИФР-1 в группах больных раком яичников с различной степенью дифференцировки опухоли (табл. 3 и 4). Медиана VEGF статистически значимо повышалась по мере снижения степени дифференцировки с 510 до 622 пг/мл ( $p < 0,002$ ), а ИФР-1, наоборот, снижалась с 219 до 116 пг/мл ( $p < 0,0001$ ). Частота повышенных значений VEGF ( $\geq 505$  пг/мл) выявлена только у половины (53,3%) больных раком яичников с опухолями низкой степени злокачественности (англ. low grade – LG), тогда как при опухолях высокой степени злокачественности (англ. high grade – HG) маркер был повышен у всех пациенток (100%). Повышенные уровни сывороточного ИФР-1 ( $\geq 135$  нг/мл), напротив, отмечены у всех пациенток с LG опухолями и только у 29,4% – с HG.

Мы не обнаружили связи между гистологическим строением опухоли и уровнями VEGF, ИФР-1, ММП-7 в сыворотке крови. Тем не менее при муцинозных и эндометриоидных опухолях яичников медианы сывороточных концентраций ММП-7 были заметно снижены, а ИФР-1 – повышены.

Выявлена прямая значимая корреляционная зависимость между содержанием VEGF в сыворотке крови и ткани опухоли больных раком яичников ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,0001$ ). Данная корреляционная зависимость была характерна для больных в возрасте от 40 до 70 лет ( $r = 0,79$ ;  $p = 0,0001$ ), а также была выражено линейной в группе больных с Ic–III стадиями рака яичников ( $r = 0,85$ ;  $p = 0,0001$ ). Для ИФР-1 отмечена обратная корреляционная зависимость между уровнем маркера в сыворотке крови и опухоли больных ( $r = -0,68$ ;  $p < 0,0001$ ). В то же время сывороточный и тканевой уровни ММП-7 не были связаны между собой.

При этом уровни тканевого VEGF, ИФР-1 и ММП-7 не были связаны с возрастом пациенток, репродуктивным статусом, наличием сопутствующих соматических и гинекологических заболеваний, гистологическим строением рака яичников, уровнями сывороточного СА-125.

Уровни VEGF в опухоли не зависели от стадии рака яичников. Вместе с тем статистически



**Таблица 8.** Содержание ИФР-1 в опухоли больных раком яичников в зависимости от степени ее дифференцировки

Степень дифференцировки опухоли	N	ИФР-1 в опухоли, нг/мг белка		Частота значений ИФР-1 $\geq 1,5$ нг/мг белка, абс. (%)
		медиана	квартили	
Low Grade <sup>[1]</sup>	15	0,6	0,5-0,8	0
High Grade <sup>[2]</sup>	34	1,4	1,1-1,6	14 (41,2)
Значение p		<sup>[1]</sup> vs <sup>[2]</sup> < 0,0001		<sup>[1]</sup> vs <sup>[2]</sup> < 0,003

**Таблица 9.** Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от исходных уровней сывороточного VEGF

VEGF в сыворотке крови, пг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость, %		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
< 540	12	Не достигнута	100	100	88,9 $\pm$ 10,5
540–605	14	Не достигнута	100	100	100
606–744	9	Не достигнута	100	100	87,5 $\pm$ 11,7
745 и более	13	20,3	76,9 $\pm$ 11,7	17,6 $\pm$ 11,2	17,6 $\pm$ 11,2
Значение p	0,00001				

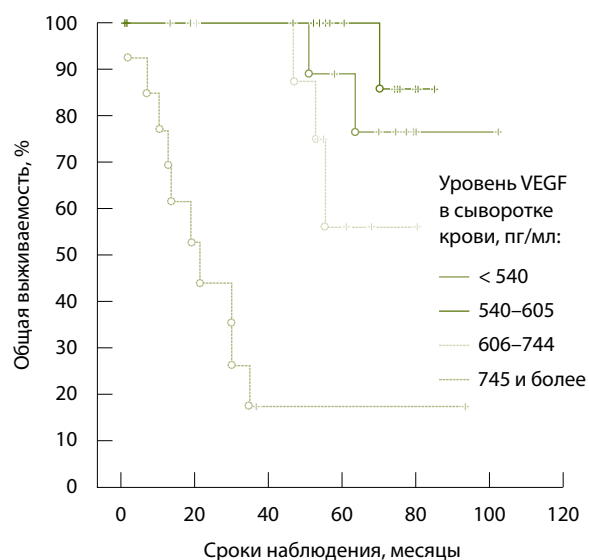
**Таблица 10.** Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровней сывороточного VEGF по порогу 700 пг/мл

VEGF в сыворотке крови, пг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость, %		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
< 700	33	Не достигнута	100	100	96,3 $\pm$ 3,6
$\geq 700$	15	23,9	80 $\pm$ 10,3	29,6 $\pm$ 12,3	9,9 $\pm$ 9
Значение p	0,00001				

значимые низкие значения ММП-7 обнаружены у больных с начальными Ia и Ib стадиями (2,1 нг/мг белка) по сравнению с IIIc и IV стадиями (6,1 и 4,7 нг/мг белка соответственно;  $p < 0,05$ ) (табл. 5). Подобная закономерность отмечена и для ИФР-1 – установлены значимо низкие значения тканевого ИФР-1 в группе больных с Ia–Ib стадиями (0,5 нг/мг белка) по сравнению с IIIc–IV стадиями (медиана 1,3–1,4 нг/мг белка) (табл. 6).

Выявлено значимое повышение экспрессии VEGF как в сыворотке крови (см. табл. 3), так и в опухоли больных раком яичников при снижении степени дифференцировки опухоли (табл. 7). Уровни ИФР-1 в опухоли, в отличие от

**Больные раком яичников (метод Каплана – Мейера)**  
○ умерла + наблюдается



**Рис. 1.** Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровня VEGF в сыворотке крови

сыворотки крови (см. табл. 4), значимо повышались с 0,6 до 1,4 нг/мл у пациенток с низкой степенью дифференцировки рака яичников (табл. 8). Не обнаружено значимых различий в показателях экспрессии тканевого ММП-7 в группах больных с LG и HG опухолями, однако в HG опухолях более чем в 2 раза чаще выявляли повышенную экспрессию ( $\geq 8,5$  нг/мг белка) исследуемого маркера.

Выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровней сывороточного VEGF Больные раком яичников были разделены по медиане и квартилям содержания сывороточного VEGF на 4 группы, в которых были рассчитаны показатели общей выживаемости (табл. 9; рис. 1). Следует отметить, что существенно худшие отдаленные результаты лечения зарегистрированы в группе пациенток с уровнями сывороточного VEGF от 866 пг/мл и выше (медиана срока жизни равнялась 12,9 месяца; 1-летняя общая выживаемость – 62,5  $\pm$  17,1%; 3-летняя – 12,5  $\pm$  11,7%).

При разделении больных раком яичников по уровню сывороточного VEGF на 2 группы (менее и более 700 пг/мл) получены высоко значимые различия (табл. 10; рис. 2). Таким образом, оценка по сывороточному маркеру VEGF показала: 15 (31,3%) больных раком яичников были с неблагоприятным прогнозом (медиана длительности жизни после проведенного лечения – 23,9 месяца, 5-летняя выживаемость – 9,9  $\pm$  9%).



**Таблица 11.** Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровней VEGF в опухоли

VEGF в опухоли, нг/мг белка	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость, %		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
< 156	10	Не достигнута	100	100	100
156–334	14	53,4	100	72,7 ± 13,4	45,5 ± 15
335–589	11	Не достигнута	100	100	83,3 ± 15,2
590 и более	13	20,7	76,9 ± 11,7	46,2 ± 13,8	36,9 ± 13,8
Значение <i>p</i>	0,00026				

**Таблица 12.** Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровней тканевого VEGF по порогу 590 нг/мг белка

VEGF в ткани опухоли, нг/мг белка	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость, %		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
< 590	35	Не достигнута	100	89,7 ± 5,7	78,5 ± 7,8
≥ 590	13	20,7	76,9 ± 11,7	46,2 ± 13,8	36,9 ± 13,8
Значение <i>p</i>	0,0008				

Выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровней тканевого VEGF

Ранее больные раком яичников были разделены на 4 группы по квартилям и медиане содержания VEGF в ткани опухоли. В этих группах рассчитали общую выживаемость больных раком яичников на прослеженных пациентках (табл. 11).

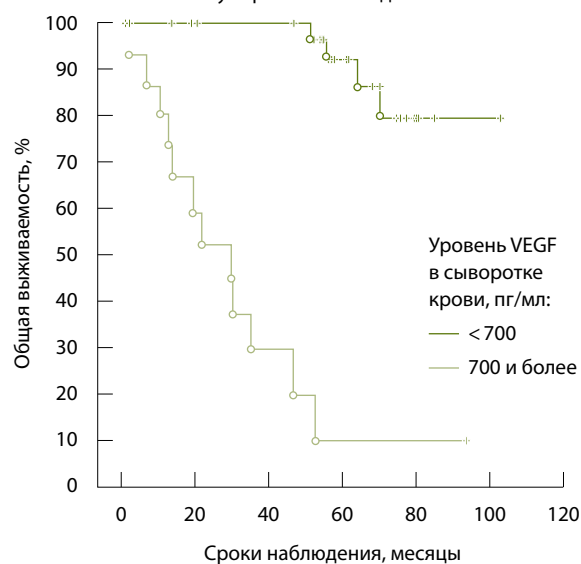
Исходя из данных, представленных в табл. 12 и на рис. 3, можно сделать заключение, что только значения VEGF в ткани опухоли выше 590 нг/мг белка можно считать прогностически неблагоприятными. Соответственно, с учетом оценки по тканевому маркеру VEGF неблагоприятный прогноз имели 13 (27,1%) больных раком яичников (медиана длительности жизни – 20,7 месяца).

## Обсуждение

Как известно, важную роль в возникновении и прогрессии рака яичников играют различные сигнальные системы. Среди них особо выделяют систему VEGF [2, 3] и ряд ММП, способствующих разрушению базальной мембраны и внеклеточного матрикса [7–13].

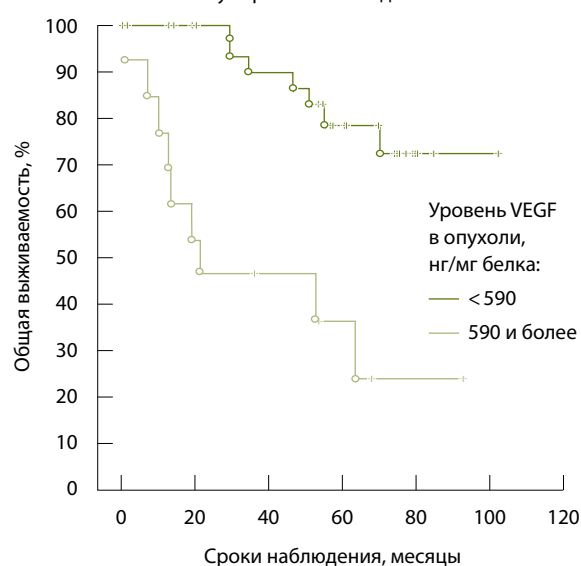
В литературе есть данные по изучению экспрессии VEGF, различных типов ММП и ключевых компонентов системы ИФР при раке яичников, однако эти исследования базировались

**Больные раком яичников (метод Каплана – Мейера)**  
○ умерла + наблюдается



**Рис. 2.** Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровня VEGF в сыворотке крови, равного 700 пг/мл

**Больные раком яичников (метод Каплана – Мейера)**  
○ умерла + наблюдается



**Рис. 3.** Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровня VEGF в опухоли менее или более 590 нг/мг белка

на клиническом анализе отдельных маркеров. В представленной нами работе проведено одновременное исследование нескольких показателей, характеризующих пролиферативную и инвазивную активности рака яичников не только в сыворотке крови, но и в первичной опухоли



пациенток и их связь с основными клиническими и морфологическими характеристиками заболевания.

Следует отметить, что ряд закономерностей, выявленных нами в настоящем исследовании, подтверждены в работах других авторов. В частности, Е.С. Герштейн и соавт. [1] обнаружили высокие показатели VEGF в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников в сочетании с высокой экспрессией ММП-7 в первичных опухолях яичников. В этих работах постулируется практическая значимость сывороточных маркеров VEGF и ММП-7 у больных первичным раком яичников, а именно, их связь с ключевыми клинико-морфологическими характеристиками заболевания: стадией опухолевого процесса, степенью дифференцировки опухоли [1]. Обсуждается роль VEGF в прогрессии и ремиссии некоторых новообразований [3, 29], связь с экспрессией ММП в процессах инвазии [2, 9].

На наш взгляд, особого внимания заслуживает раздел исследования, посвященный ИФР-1 в сыворотке крови и в опухоли при раке яичников. Несмотря на то что маркеры системы ИФР широко изучали при различных опухолях человека, всплеск публикационной активности по этой проблеме именно при раке яичников приходится на последнее десятилетие [4, 5, 23, 26].

И, наконец, наиболее важным выводом нашего исследования видится наличие корреляционной связи экспрессии изученных нами биологических маркеров пролиферативной и инвазивной активностей в первичной опухоли и сыворотке крови. Существующие данные литературы не однозначны, поскольку не все исследователи выявили связь сывороточных уровней с показателями экспрессии VEGF, ММП-7 и ИФР-1 в опухоли.

В течение многих десятилетий предпринимаются попытки разработать и использовать неинвазивные методы в определении опухолевых маркеров для диагностики и оценки прогноза различных злокачественных опухолей, включая рак яичников. Однако во многих наблюдениях эквивалентной замены показателей экспрессии маркеров в опухоли на сывороточные их уровни обнаружить достаточно сложно. В представленной нами работе выявлена прямая корреляционная связь между уровнями сывороточных и тканевых маркеров у больных раком яичников. Следует также указать, что VEGF, ИФР-1 и ММП-7 образуют сложную сеть взаимодействий не только между собой, но и с другими биологическими регуляторами роста и выживаемости опухолевых клеток.

Уровни этих маркеров в опухоли и сыворотке крови разнонаправленно связаны между собой. Так, например, уровни ММП-7 в сыворотке крови и опухоли не связаны корреляционной зависимостью, в отличие от VEGF и ИФР-1. Вместе с тем имеется прямая корреляционная зависимость между содержанием VEGF в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников ( $r=0,65$ ;  $p<0,0001$ ). При этом отмечено значимое повышение маркера как в сыворотке крови больных, так и в опухоли при снижении степени дифференцировки рака яичников. Уровни сывороточного VEGF более 700 пг/мл, а в ткани опухоли более 590 нг/мг белка следует считать неблагоприятными факторами прогноза общей выживаемости больных раком яичников. Среди членов семейства VEGF наиболее важным регулятором роста кровеносных сосудов, в том числе и в опухоли яичников, признан VEGF-A. Стало известно, что к числу генов, регулирующих VEGF в эндотелиальных клетках, относится протоонкоген *c-ets-1*, кодирующий транскрипционный фактор Ets-1, который способствует проявлению ангиогенного фенотипа этих клеток, активируя синтез белков важнейших протеаз, расщепляющих внеклеточный матрикс, и среди них ММП-1, -3, -9. Активация протеаз облегчает дезинтеграцию эндотелиальных клеток и их инвазию в базальный слой сосудов, генерирует продукты деградации внеклеточного матрикса, активирует находящиеся в нем факторы роста опухоли [11]. Именно поэтому в проведенном нами исследовании было важно выявить связь экспрессии VEGF с ММП-7. И, конечно, наш интерес к вышеуказанному биологическим мишеням обусловлен возможностью использования специфических целенаправленных («таргетных») ингибиторов для подавления их активности при различных опухолях, в том числе и раке яичников [30–33].

## Выводы

1. Показатели VEGF в сыворотке крови больных раком яичников статистически значимо выше по сравнению с контролем. Наиболее информативными уровнями, разделяющими больных раком яичников и здоровых женщин, были значения сывороточного VEGF менее 350 пг/мл (медиана показателя в контроле) и более 505 пг/мл (верхняя квартиль показателя в контроле), чувствительность теста по порогу 505 пг/мл равнялась 79,6%, специфичность – 75%.
2. Концентрации ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников выше по сравнению





с контролем и при III–IV стадиях (критерий Манна – Уитни,  $p < 0,0001$ ), не связаны корреляционной зависимостью с уровнем маркера в опухоли ( $r = -0,68$ ;  $p < 0,0001$ ) и не зависят от степени ее дифференцировки. С помощью построения кривых ROC получено наилучшее соотношение чувствительности и специфичности при разделении групп больных раком яичников и контроля по уровню ММП-7, равного 4,6 нг/мл (чувствительность теста 83,3%, специфичность 81%).

3. Дисперсионный анализ не выявил связи сывороточных показателей VEGF, ИФР-1 и ММП-7 с возрастом больных раком яичников, гистологическим строением опухоли, сопутствующими соматическими и гинекологическими заболеваниями, уровнем СА-125. Показатели VEGF

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

и ИФР-1 не отражали стадию рака яичников, а при снижении степени дифференцировки рака яичников отмечено статистически значимое снижение концентрации ИФР-1 в сыворотке крови.

4. Обнаружена прямая корреляционная зависимость между содержанием VEGF в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,0001$ ), при этом отмечено значимое повышение маркера как в сыворотке крови больных, так и в опухоли при снижении степени дифференцировки рака яичников. Уровни сывороточного VEGF более 700 пг/мл, а в ткани опухоли более 590 нг/мг белка следует считать неблагоприятными факторами прогноза общей выживаемости больных раком яичников. ©

## Литература

1. Герштейн ЕС, Кушлинский НЕ. Ассоциированные с опухолью протеазы и их тканевые ингибиторы. В: Кушлинский НЕ, Красильников МА, ред. Биологические маркеры опухолей: фундаментальные и клинические исследования. М.: Издательство РАМН; 2017. с. 197–230.
2. Gao H, Lan X, Li S, Xue Y. Relationships of MMP-9, E-cadherin, and VEGF expression with clinicopathological features and response to chemosensitivity in gastric cancer. *Tumour Biol.* 2017;39(5):1010428317698368. doi: 10.1177/1010428317698368.
3. Liang L, Yue Z, Du W, Li Y, Tao H, Wang D, Wang R, Huang Z, He N, Xie X, Han Z, Liu N, Li Z. Molecular imaging of inducible VEGF expression and tumor progression in a breast cancer model. *Cell Physiol Biochem.* 2017;42(1):407–15. doi: 10.1159/000477485.
4. Poljicanin A, Filipovic N, Vukusic Pusic T, Soljic V, Caric A, Saraga-Babic M, Vukojevic K. Expression pattern of RAGE and IGF-1 in the human fetal ovary and ovarian serous carcinoma. *Acta Histochem.* 2015;117(4–5):468–76. doi: 10.1016/j.acthis.2015.01.004.
5. Gianuzzi X, Palma-Ardiles G, Hernandez-Fernandez W, Pasupuleti V, Hernandez AV, Perez-Lopez FR. Insulin growth factor (IGF) 1, IGF-binding proteins and ovarian cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Maturitas.* 2016;94:22–9. doi: 10.1016/j.maturitas.2016.08.012.
6. Yunusova NV, Villert AB, Spirina LV, Frolova AE, Kolomiets LA, Kondakova IV. Insulin-like growth factors and their binding proteins in tumors and ascites of ovarian cancer patients: association with response to neoadjuvant chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17(12):5315–20. doi: 10.22034/APJCP.2016.17.12.5315.
7. Кушлинский НЕ, Герштейн ЕС, Короткова ЕА, Прокопов ВВ. Прогностическое значение ассоциированных с опухолью протеаз при раке толстой кишки. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2012;154(9):350–6.
8. Шадрин АС, Плиева ЯЗ, Кушлинский ДН, Морозов АА, Филипенко МЛ, Чанг ВЛ, Кушлинский НЕ. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матричных металлопротеиназ в норме и при патологии. *Альманах клинической медицины.* 2017;45(4):266–79. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279.
9. Duffy MJ, McGowan PM, Gallagher WM. Cancer invasion and metastasis: changing views. *J Pathol.* 2008;214(3):283–93. doi: 10.1002/path.2282.
10. Rasool M, Malik A, Basit Ashraf MA, Parveen G, Iqbal S, Ali I, Qazi MH, Asif M, Kamran K, Iqbal A, Iram S, Khan SU, Mustafa MZ, Zaheer A, Shaikh R, Choudhry H, Jamal MS. Evaluation of matrix metalloproteinases, cytokines and their potential role in the development of ovarian cancer. *PLoS One.* 2016;11(11):e0167149. doi: 10.1371/journal.pone.0167149.
11. Isaacson KJ, Martin Jensen M, Subrahmanyam NB, Ghandehari H. Matrix-metalloproteinases as targets for controlled delivery in cancer: an analysis of upregulation and expression. *J Control Release.* 2017;259:62–75. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.01.034.
12. Jackson HW, Defamie V, Waterhouse P, Khokha R. TIMPs: versatile extracellular regulators in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2017;17(1):38–53. doi: 10.1038/nrc.2016.115.
13. Zhang Y, Chen Q. Relationship between matrix metalloproteinases and the occurrence and development of ovarian cancer. *Braz J Med Biol Res.* 2017;50(6):e6104. doi: 10.1590/1414-431X20176104.
14. González-Palomares B, Coronado Martín PJ, Maestro de Las Casas ML, Veganzones de Castro S, Rafael Fernández S, Vidaurreta Lázaro M, De la Orden García V, Vidart Aragon JA. Vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphisms and serum VEGF levels in women with epithelial ovarian cancer, benign tumors, and healthy ovaries. *Int J Gynecol Cancer.* 2017;27(6):1088–95. doi: 10.1097/IGC.0000000000001006.
15. Mukherjee S, Pal M, Mukhopadhyay S, Das I, Hazra R, Ghosh S, Mondal RK, Bal R. VEGF expression to support targeted therapy in ovarian surface epithelial neoplasms. *J Clin Diagn Res.* 2017;11(4):EC43–6. doi: 10.7860/JCDR/2017/24670.9737.
16. Bruchim I, Werner H. Targeting IGF-1 signaling pathways in gynecologic malignancies. *Expert Opin Ther Targets.* 2013;17(3):307–20. doi: 10.1517/14728222.2013.749863.
17. Tas F, Karabulut S, Serilmez M, Ciftci R, Duranyildiz D. Clinical significance of serum insu-



- lin-like growth factor-1 (IGF-1) and insulinlike growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) in patients with epithelial ovarian cancer. *Tumour Biol.* 2014;35(4):3125–32. doi: 10.1007/s13277-013-1405-8.
18. Higashiguchi T, Hotta T, Takifuji K, Yokoyama S, Matsuda K, Tominaga T, Oku Y, Yamaue H. Clinical impact of matrix metalloproteinase-7 mRNA expression in the invasive front and inner surface of tumor tissues in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2007;50(10):1585–93. doi: 10.1007/s10350-007-9016-3.
  19. Mieszalo K, Ławicki S, Szmikowski M. The utility of metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) in diagnostics of gynecological malignancies. *Pol Merkur Lekarski.* 2016;40(237):193–7.
  20. Juchniewicz A, Kowalczyk O, Milewski R, Laudański W, Dziegielewska P, Kozłowski M, Nikliński J. MMP-10, MMP-7, TIMP-1 and TIMP-2 mRNA expression in esophageal cancer. *Acta Biochim Pol.* 2017;64(2):295–9. doi: 10.18388/abp.2016\_1408.
  21. Deryugina EI, Quigley JP. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2006;25(1):9–34. doi: 10.1007/s10555-006-7886-9.
  22. Brokaw J, Katsaros D, Wiley A, Lu L, Su D, Sochirca O, de la Longrais IA, Mayne S, Risch H, Yu H. IGF-I in epithelial ovarian cancer and its role in disease progression. *Growth Factors.* 2007;25(5):346–54. doi: 10.1080/08977190701838402.
  23. Serin IS, Tanriverdi F, Yilmaz MO, Ozcelik B, Unluhizarci K. Serum insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein (IGFBP)-3, leptin concentrations and insulin resistance in benign and malignant epithelial ovarian tumors in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol.* 2008;24(3):117–21. doi: 10.1080/09513590801895559.
  24. Chen HX, Xu XX, Tan BZ, Zhang Z, Zhou XD. MicroRNA-29b inhibits angiogenesis by targeting VEGFA through the MAPK/ERK and PI3K/Akt signaling pathways in endometrial carcinoma. *Cell Physiol Biochem.* 2017;41(3):933–46. doi: 10.1159/000460510.
  25. Eliassen AH, Hankinson SE. Endogenous hormone levels and risk of breast, endometrial and ovarian cancers: prospective studies. *Adv Exp Med Biol.* 2008;630:148–65.
  26. Terry KL, Tworoger SS, Gates MA, Cramer DW, Hankinson SE. Common genetic variation in IGF1, IGFBP1 and IGFBP3 and ovarian cancer risk. *Carcinogenesis.* 2009;30(12):2042–6. doi: 10.1093/carcin/bgp257.
  27. Ose J, Schock H, Poole EM, Lehtinen M, Visvanathan K, Helzlsouer K, Buring JE, Lee IM, Tjønneland A, Boutron-Ruault MC, Trichopoulos A, Mattiello A, Onland-Moret NC, Weiderpass E, Sánchez MJ, Idahl A, Travis RC, Rinaldi S, Merriitt MA, Wentzensen N, Tworoger SS, Kaaks R, Fortner RT. Pre-diagnosis insulin-like growth factor-I and risk of epithelial invasive ovarian cancer by histological subtypes: a collaborative re-analysis from the Ovarian Cancer Cohort Consortium. *Cancer Causes Control.* 2017;28(5):429–35. doi: 10.1007/s10552-017-0852-8.
  28. Eckstein N, Servan K, Hildebrandt B, Pölit A, von Jonquieres G, Wolf-Kümmeth S, Napierki I, Hamacher A, Kassack MU, Budczies J, Beier M, Diel M, Royer-Pokora B, Denkert C, Royer HD. Hyperactivation of the insulin-like growth factor receptor I signaling pathway is an essential event for cisplatin resistance of ovarian cancer cells. *Cancer Res.* 2009;69(7):2996–3003. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3153.
  29. Macedo F, Ladeira K, Longatto-Filho A, Martins SF. Gastric cancer and angiogenesis: is VEGF a useful biomarker to assess progression and remission? *J Gastric Cancer.* 2017;17(1):1–10. doi: 10.5230/jgc.2017.17.e1.
  30. Koti M, Gooding RJ, Nuin P, Haslehurst A, Crane C, Weberpals J, Childs T, Bryson P, Dharsee M, Evans K, Feilotter HE, Park PC, Squire JA. Identification of the IGF1/PI3K/NF κB/ERK gene signalling networks associated with chemotherapy resistance and treatment response in high-grade serous epithelial ovarian cancer. *BMC Cancer.* 2013;13:549. doi: 10.1186/1471-2407-13-549.
  31. Bueno MJ, Mouron S, Quintela-Fandino M. Personalising and targeting antiangiogenic resistance: a complex and multifactorial approach. *Br J Cancer.* 2017;116(9):1119–25. doi: 10.1038/bjc.2017.69.
  32. Chase DM, Chaplin DJ, Monk BJ. The development and use of vascular targeted therapy in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2017;145(2):393–406. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.01.031.
  33. Roskoski R Jr. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor inhibitors in the treatment of renal cell carcinomas. *Pharmacol Res.* 2017;120:116–32. doi: 10.1016/j.phrs.2017.03.010.

## References

1. Gershtein ES, Kushlinskii NE. Associated with tumor proteases and their tissue inhibitors. In: Kushlinskii NE, Krasilnikov MA, editors. *Biological tumor markers: basic and clinical research.* Moscow: RAMS Publishing House; 2017. p. 197–230.
2. Gao H, Lan X, Li S, Xue Y. Relationships of MMP-9, E-cadherin, and VEGF expression with clinicopathological features and response to chemosensitivity in gastric cancer. *Tumour Biol.* 2017;39(5):1010428317698368. doi: 10.1177/1010428317698368.
3. Liang L, Yue Z, Du W, Li Y, Tao H, Wang D, Wang R, Huang Z, He N, Xie X, Han Z, Liu N, Li Z. Molecular imaging of inducible VEGF expression and tumor progression in a breast cancer model. *Cell Physiol Biochem.* 2017;42(1):407–15. doi: 10.1159/000477485.
4. Poljicanin A, Filipovic N, Vukusic Pusic T, Soljic V, Caric A, Saraga-Babic M, Vukojevic K. Expression pattern of RAGE and IGF-1 in the human fetal ovary and ovarian serous carcinoma. *Acta Histochem.* 2015;117(4–5):468–76. doi: 10.1016/j.acthis.2015.01.004.
5. Gianuzzi X, Palma-Ardiles G, Hernandez-Fernandez W, Pasupuleti V, Hernandez AV, Perez-Lopez FR. Insulin growth factor (IGF) 1, IGF-binding proteins and ovarian cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Maturitas.* 2016;94:22–9. doi: 10.1016/j.maturitas.2016.08.012.
6. Yunusova NV, Villert AB, Spirina LV, Frolova AE, Kolomiets LA, Kondakova IV. Insulin-like growth factors and their binding proteins in tumors and ascites of ovarian cancer patients: association with response to neoadjuvant chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17(12):5315–20. doi: 10.22034/APJCP.2016.17.12.5315.
7. Kushlinskii NE, Gershtein ES, Korotkova EA, Prorokov VV. Prognostic role of tumor-associated proteases in colorectal cancer. *Bull Exp Biol Med.* 2013;154(3):365–9.
8. Shadrina AS, Plieva YZ, Kushlinskiy DN, Morozov AA, Filipenko ML, Chang VL, Kushlinskii NE. Classification, regulation of activity, and genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in health and disease. *Almanac of Clinical Medicine.* 2017;45(4):266–79. Russian. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279.
9. Duffy MJ, McGowan PM, Gallagher WM. Cancer invasion and metastasis: changing views.



- J Pathol. 2008;214(3):283–93. doi: 10.1002/path.2282.
10. Rasool M, Malik A, Basit Ashraf MA, Parveen G, Iqbal S, Ali I, Qazi MH, Asif M, Kamran K, Iqbal A, Iram S, Khan SU, Mustafa MZ, Zaheer A, Shaikh R, Choudhry H, Jamal MS. Evaluation of matrix metalloproteinases, cytokines and their potential role in the development of ovarian cancer. *PLoS One*. 2016;11(11):e0167149. doi: 10.1371/journal.pone.0167149.
11. Isaacson KJ, Martin Jensen M, Subrahmanyam NB, Ghandehari H. Matrix-metalloproteinases as targets for controlled delivery in cancer: an analysis of upregulation and expression. *J Control Release*. 2017;259:62–75. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.01.034.
12. Jackson HW, Defamie V, Waterhouse P, Khokha R. TIMPs: versatile extracellular regulators in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(1):38–53. doi: 10.1038/nrc.2016.115.
13. Zhang Y, Chen Q. Relationship between matrix metalloproteinases and the occurrence and development of ovarian cancer. *Braz J Med Biol Res*. 2017;50(6):e6104. doi: 10.1590/1414-431X20176104.
14. González-Palomares B, Coronado Martín PJ, Maestro de Las Casas ML, Veganzones de Castro S, Rafael Fernández S, Vidaurreta Lázaro M, De la Orden García V, Vidart Aragon JA. Vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphisms and serum VEGF levels in women with epithelial ovarian cancer, benign tumors, and healthy ovaries. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27(6):1088–95. doi: 10.1097/IGC.0000000000001006.
15. Mukherjee S, Pal M, Mukhopadhyay S, Das I, Hazra R, Ghosh S, Mondal RK, Bal R. VEGF expression to support targeted therapy in ovarian surface epithelial neoplasms. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(4):EC43–6. doi: 10.7860/JCDR/2017/24670.9737.
16. Bruchim I, Werner H. Targeting IGF-1 signaling pathways in gynecologic malignancies. *Expert Opin Ther Targets*. 2013;17(3):307–20. doi: 10.1517/14728222.2013.749863.
17. Tas F, Karabulut S, Serilmez M, Ciftci R, Duranyildiz D. Clinical significance of serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and insulinlike growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) in patients with epithelial ovarian cancer. *Tumour Biol*. 2014;35(4):3125–32. doi: 10.1007/s13277-013-1405-8.
18. Higashiguchi T, Hotta T, Takifuji K, Yokoyama S, Matsuda K, Tominaga T, Oku Y, Yamaue H. Clinical impact of matrix metalloproteinase-7 mRNA expression in the invasive front and inner surface of tumor tissues in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2007;50(10):1585–93. doi: 10.1007/s10350-007-9016-3.
19. Mieszala K, Ławicki S, Szmitkowski M. The utility of metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) in diagnostics of gynecological malignancies. *Pol Merkuri Lekarski*. 2016;40(237):193–7.
20. Juchniewicz A, Kowalczyk O, Milewski R, Ludański W, Dziegielewska P, Kozłowski M, Nikliński J. MMP-10, MMP-7, TIMP-1 and TIMP-2 mRNA expression in esophageal cancer. *Acta Biochim Pol*. 2017;64(2):295–9. doi: 10.18388/abp.2016\_1408.
21. Deryugina EI, Quigley JP. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 2006;25(1):9–34. doi: 10.1007/s10555-006-7886-9.
22. Brokaw J, Katsaros D, Wiley A, Lu L, Su D, Sochirca O, de la Longrais IA, Mayne S, Risch H, Yu H. IGF-1 in epithelial ovarian

## Comparative analysis of serum and tumor vascular endothelial growth factor, insulin-like growth factor 1, matrix metalloproteinase 7 levels in patients with ovarian cancer

Plieva Ya.Z.<sup>1</sup> • Ermilova V.D.<sup>2</sup> • Tereshkina I.V.<sup>1</sup> • Kushlinskiy D.N.<sup>3</sup> • Shelepova V.M.<sup>2</sup> • Utkin D.O.<sup>1</sup> • Khokhlova S.V.<sup>2</sup> • Dvorova E.K.<sup>2</sup> • Payanidi Yu.G.<sup>2</sup> • Zhordania K.I.<sup>2</sup>

**Aim:** To perform a comparative analysis with simultaneous measurement of vascular endothelial growth factor (VEGF), insulin-like growth factor 1 (IGF1) and matrix metalloproteinase 7 (MMP7) in serum samples taken from healthy women and ovarian cancer patients; to perform association of these markers with their expression in primary tumors depending on clinical, morphological and biochemical characteristics of the disease and its prognosis. **Materials and methods:** We assessed 54 treatment-naïve patients with ovarian cancer aged from 23 to 74 years (mean±SD, 53.2±1.9), being at various FIGO stages of the disease. The control group consisted of 120 healthy women of matched age and reproductive status, in whom

serum biomarker levels were studied. Patient survival was assessed by the Kaplan-Meier method, with survival curves compared with log-rank test. All analyses were done with "STATISTICA" and SPSS software. **Results:** Serum VEGF levels in ovarian cancer patients were significantly ( $p < 0.0001$ ) higher compared those in the control. The most informative cut-off values differentiating the groups studied were serum VEGF values of  $< 350$  pg/ml (median value in the control) and  $> 505$  pg/ml (upper quartile in the control). With 505 pg/ml taken as a threshold, the test had sensitivity of 79.6% and specificity of 75%. Another cut-off value of serum VEGF level between the patients with ovarian cancer and the control group (510 pg/ml) was derived from ROC

curves and 75% sensitivity and 78.2% specificity. No acceptable cut-off value for serum IGF1 to differentiate between the patients with ovarian cancer and the controls could be obtained from the ROC curves. Serum MMP7 levels in the patients with ovarian cancer were significantly higher than those in the control group (Mann-Whitney test  $p < 0.0001$ ). With ROC curves, the best sensitivity to specificity ratio for MMP7 value of 4.6 ng/ml was obtained to differentiate between the patients with ovarian cancer and the controls (sensitivity 83.3%, and specificity 81%). The variance analysis did not reveal any association between serum VEGF, IGF1 and MMP7 and age of patients with ovarian cancer, tumor histology, concomitant somatic and gynecological



- cancer and its role in disease progression. *Growth Factors*. 2007;25(5):346–54. doi: 10.1080/08977190701838402.
23. Serin IS, Tanriverdi F, Yilmaz MO, Ozcelik B, Unluhizarci K. Serum insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein (IGFBP)-3, leptin concentrations and insulin resistance in benign and malignant epithelial ovarian tumors in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol*. 2008;24(3):117–21. doi: 10.1080/09513590801895559.
24. Chen HX, Xu XX, Tan BZ, Zhang Z, Zhou XD. MicroRNA-29b inhibits angiogenesis by targeting VEGFA through the MAPK/ERK and PI3K/Akt signaling pathways in endometrial carcinoma. *Cell Physiol Biochem*. 2017;41(3):933–46. doi: 10.1159/000460510.
25. Eliassen AH, Hankinson SE. Endogenous hormone levels and risk of breast, endometrial and ovarian cancers: prospective studies. *Adv Exp Med Biol*. 2008;630:148–65.
26. Terry KL, Tworoger SS, Gates MA, Cramer DW, Hankinson SE. Common genetic variation in IGF1, IGFBP1 and IGFBP3 and ovarian cancer risk. *Carcinogenesis*. 2009;30(12):2042–6. doi: 10.1093/carcin/bgp257.
27. Ose J, Schock H, Poole EM, Lehtinen M, Visvanathan K, Helzlsouer K, Buring JE, Lee IM, Tjønneland A, Boutron-Ruault MC, Trichopoulos A, Mattiello A, Onland-Moret NC, Weiderpass E, Sánchez MJ, Idahl A, Travis RC, Rinaldi S, Merritt MA, Wentzensen N, Tworoger SS, Kaaks R, Fortner RT. Pre-diagnosis insulin-like growth factor-I and risk of epithelial invasive ovarian cancer by histological subtypes: a collaborative re-analysis from the Ovarian Cancer Cohort Consortium. *Cancer Causes Control*. 2017;28(5):429–35. doi: 10.1007/s10552-017-0852-8.
28. Eckstein N, Servan K, Hildebrandt B, Pölitz A, von Jonquieres G, Wolf-Kümmeth S, Napierski I, Hamacher A, Kassack MU, Budczies J, Beier M, Dietel M, Royer-Pokora B, Denkert C, Royer HD. Hyperactivation of the insulin-like growth factor receptor I signaling pathway is an essential event for cisplatin resistance of ovarian cancer cells. *Cancer Res*. 2009;69(7):2996–3003. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3153.
29. Macedo F, Ladeira K, Longatto-Filho A, Martins SF. Gastric cancer and angiogenesis: is VEGF a useful biomarker to assess progression and remission? *J Gastric Cancer*. 2017;17(1):1–10. doi: 10.5230/jgc.2017.17.e1.
30. Koti M, Gooding RJ, Nuin P, Haslehurst A, Crane C, Weberpals J, Childs T, Bryson P, Dharsee M, Evans K, Feilotter HE, Park PC, Squire JA. Identification of the IGF1/PI3K/NF- $\kappa$ B/ERK gene signalling networks associated with chemotherapy resistance and treatment response in high-grade serous epithelial ovarian cancer. *BMC Cancer*. 2013;13:549. doi: 10.1186/1471-2407-13-549.
31. Bueno MJ, Mouron S, Quintela-Fandino M. Personalising and targeting antiangiogenic resistance: a complex and multifactorial approach. *Br J Cancer*. 2017;116(9):1119–25. doi: 10.1038/bjc.2017.69.
32. Chase DM, Chaplin DJ, Monk BJ. The development and use of vascular targeted therapy in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2017;145(2):393–406. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.01.031.
33. Roskoski R Jr. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor inhibitors in the treatment of renal cell carcinomas. *Pharmacol Res*. 2017;120:116–32. doi: 10.1016/j.phrs.2017.03.010.
- diseases, and CA-125 levels. Serum VEGF and IGF1 levels did not correlate with the stage of ovarian cancer, in contrast to MMP7, whose levels were significantly higher in stages IIIc–IV. The median VEGF level significantly increased as the degree of differentiation decreased from 510 to 622 pg/ml ( $p < 0.002$ ), while median IGF1, on the contrary, decreased from 219 to 116 pg/ml ( $p < 0.0001$ ). There was a direct correlation between serum and tumor VEGF levels in ovarian cancer patients ( $r = 0.65$ ,  $p < 0.0001$ ). On the contrary, there was an inverse correlation between serum and tumor IGF1 levels ( $r = -0.68$ ,  $p < 0.0001$ ). Serum and tumor MMP7 levels remained unrelated to each other. Tumor VEGF, IGF1 and MMP7 content was unrelated to the age of the patients, their reproductive status, presence of concomitant somatic and gynecological diseases, histology of ovarian cancer, and serum CA-125 levels. VEGF levels in the tumor were not associated with the stage of ovarian cancer, but in patients with initial stages Ia and Ib stages MMP7 values significantly lower (2.1 ng/mg protein) compared to those in stages IIIc and IV (6.1 and 4.7 ng/mg protein, respectively,  $p < 0.05$ ). Similar pattern was noted for IGF1: tumor IGF1 values in the patients with stages Ia–Ib were significantly lower (0.5 ng/mg protein) than those with stages IIIc–IV (median, 1.3–1.4 ng/mg protein). A significant increase in both serum and tumor VEGF levels was detected in the patients with ovarian cancer with decreased degree of differentiation. On the contrary, tumor IGF1 levels, but not serum ones, were significantly increased from 0.6 to 1.4 ng/ml in the patients with poorly differentiated ovarian cancer. MMP7 tumor expression did not depend on the degree of its differentiation. Serum VEGF levels above 700 pg/ml and tumor levels of above 590 ng/mg protein should be considered as unfavorable prognostic factors in patients with ovarian cancer.
- Key words:** ovarian cancer, vascular endothelial growth factor, insulin-like growth factor 1, matrix metalloproteinase 7
- For citation:** Plieva YaZ, Ermilova VD, Tereshkina IV, Kushlinskiy DN, Shelepova VM, Utkin DO, Khokhlova SV, Dvorova EK, Payanidi YuG, Zhordania KI. Comparative analysis of serum and tumor vascular endothelial growth factor, insulin-like growth factor 1, matrix metalloproteinase 7 levels in patients with ovarian cancer. *Almanac of Clinical Medicine*. 2017;45(8):616–27. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-8-616-627.

**Plieva Yana Z.** – PhD Student, Chair of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics<sup>1</sup>  
 ✉ 20–1 Delegatskaya ul., Moscow, 127473, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 11 59.  
 E-mail: biochimia@yandex.ru

**Ermilova Valeriya D.** – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Pathological Anatomy of Human Tumors<sup>2</sup>

**Tereshkina Irina V.** – MD, PhD, Gynecologist, Competitor, Chair of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics<sup>1</sup>

**Kushlinskiy Dmitriy N.** – MD, PhD, Oncogynecologist, Department of Combined Methods of Treatment<sup>3</sup>

**Shelepova Valentina M.** – MD, PhD, Leading Research Fellow, Laboratory of Oncoimmunology<sup>2</sup>

**Utkin Dmitriy O.** – PhD Student, Chair of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics<sup>1</sup>

**Khokhlova Svetlana V.** – MD, PhD, Senior Research Fellow, Chemotherapy Department<sup>2</sup>

**Dvorova Elena K.** – Statistical Engineer<sup>2</sup>

**Payanidi Yuliya G.** – MD, PhD, Professor, Department of Oncogynecology<sup>2</sup>

**Zhordania Kirill I.** – MD, PhD, Professor, Department of Oncogynecology<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov; 20–1 Delegatskaya ul., Moscow, 127473, Russian Federation

<sup>2</sup> N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

<sup>3</sup> National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V.I. Kulakov; 4 Akademika Oparina ul., Moscow, 117997, Russian Federation

#### Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.