



Клиническое значение исследования инсулиноподобных факторов роста (ИФР) и ИФР-связывающих белков у больных новообразованиями яичников

Герштейн Е.С. • Кушлинский Д.Н. • Короткова Е.А. • Исаева Э.Р. • Ермилова В.Д. • Лактионов К.П. • Адамян Л.В. • Кушлинский Н.Е.

Актуальность. Сигнальная система инсулиноподобных факторов роста (ИФР) играет важную роль в возникновении и прогрессии различных злокачественных опухолей, в том числе рака яичников, поэтому ее компоненты рассматриваются в качестве потенциальных диагностических и прогностических маркеров заболевания и мишеней для молекулярно-направленной терапии.

Цель – сравнительная оценка содержания ИФР-I и II и ИФР-связывающих белков (ИФРСБ) 1, 2 и 3 в сыворотке крови и опухолях больных различными новообразованиями яичников, анализ их взаимосвязи с клинико-морфологическими особенностями рака яичников и оценка клинических перспектив определения данных маркеров для диагностики и прогноза заболевания.

Материал и методы. Содержание ИФР-I, II и ИФРСБ-1, 2, 3 определено в сыворотке крови и экстрактах опухолей 74 больных раком, 14 пограничными и 16 доброкачественными опухолями яичников с помощью наборов для прямого иммуноферментного анализа Mediagnost (Германия). В контрольную группу вошли 77 практически здоровых женщин.

Результаты. Выявлено 3 потенциальных серологических маркера рака яичников – ИФРСБ-2, ИФРСБ-1 и ИФР-I. Наилучшее соотношение диагностической чувствительности и специфичности продемонстрировано для ИФРСБ-2: при пороговом уровне 370 нг/мл эти показатели равны 87 и 79% соответственно. Выявленные диагностические маркеры влияют также на прогноз общей выживаемости

больных раком яичников, причем низкий уровень ИФР-I имеет независимое неблагоприятное прогностическое значение по данным многофакторного анализа. На прогноз заболевания влияет также содержание ИФР-II и ИФРСБ-1 в ткани опухоли.

Заключение. Выявлены нарушения баланса ИФР/ИФРСБ у больных раком яичников и показано, что отдельные компоненты этой системы могут рассматриваться в качестве диагностических и прогностических маркеров данного заболевания.

Ключевые слова: ИФР-I, ИФР-II, ИФРСБ-1, ИФРСБ-2, ИФРСБ-3, опухоли яичников.

doi: 10.18786/2072-0505-2015-41-19-27

Рак яичников – одно из наиболее распространенных и неблагоприятно протекающих онкологических заболеваний, лидирующее по числу смертельных случаев среди новообразований женских половых органов. К сожалению, у большей части пациенток рак яичников диагностируется на поздних стадиях, когда опухоль уже распространена по брюшине. Несмотря на то что в отличие от большинства

опухолей для рака яичников имеются проверенные временем достаточно специфичные и чувствительные серологические маркеры – в первую очередь СА-125, а также внедренный в практику в последние 10 лет HE4, – первичный скрининг и особенно раннее выявление рака яичников по-прежнему остаются актуальной проблемой, требующей новых исследований и разработок [1]. Кроме того, высокий метастатический



и инвазивный потенциал рака яичников обуславливает необходимость углубленного изучения механизмов распространения этой опухоли, знание которых могло бы стать основой для создания новых препаратов, целенаправленно воздействующих на процессы метастазирования и инвазии.

Хорошо известно, что одну из ключевых ролей в возникновении и прогрессии различных злокачественных опухолей играет сигнальная система инсулиноподобных факторов роста (ИФР) [2, 3], включающая ИФР-I и II – митогенные пептиды, высокомолекулярные друг другу и инсулину. ИФР синтезируются в печени и некоторых других тканях под влиянием соматотропного гормона гипофиза и, распространяясь по организму с кровью, воздействуют на периферические ткани, проявляя так называемый центральный, или эндокринный, механизм действия. Но они могут синтезироваться также клетками различных опухолей и выступать в качестве ауто/паракринных медиаторов, опосредующих рост, метастазирование и антиапоптотические ответы злокачественных клеток.

Система реализации эффектов ИФР помимо самих ИФР-лигандов и инсулина включает 4 типа трансмембранных рецепторов и как минимум 6 ИФР-связывающих белков (ИФРСБ) крови, секретируемых различными тканями организма и связывающих ИФР с таким же или даже большим средством, чем клеточные рецепторы. ИФРСБ модулируют биологическую доступность и активность ИФР несколькими способами: осуществляют перенос ИФР из периферической крови к тканям-мишеням, поддерживают резервный уровень ИФР в крови, усиливают или ингибируют эффекты ИФР, а также опосредуют некоторые ИФР-независимые биологические эффекты [4, 5]. Они обеспечивают сохранение резервного уровня ИФР во внеклеточном матриксе некоторых тканей. ИФР, ИФР-рецепторы и ИФРСБ образуют сложно регулируемую сеть взаимодействий как между собой, так и с другими биологическими регуляторами роста и выживаемости клеток.

Результаты экспериментальных и предварительных клинических исследований свидетельствуют о том, что в клетках эпителиального рака яичников присутствуют все компоненты, необходимые для реализации аутокринного механизма действия ИФР-I и ИФР-II [6, 7]. Показано, что белки семейства ИФР стимулируют не только

Герштейн Елена

Сергеевна – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотр. лаборатории клинической биохимии¹
✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация. Тел.: +7 (499) 324 11 59. E-mail: esgershtein@gmail.com

Кушлинский Дмитрий

Николаевич – хирург-онкогинеколог отделения комбинированных и комплексных методов лечения гинекологических заболеваний²

Короткова Екатерина

Андреевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клинической биохимии¹

Исаева Эмилия

Расимовна – врач-онколог научно-поликлинического отдела¹

Ермилова Валерия

Дмитриевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. отдела патологической анатомии опухолей человека¹

Лактионов Константин

Павлович – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделением опухолей женской репродуктивной системы¹

Адамян Лейла

Владимировна – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заместитель директора по научной работе²

Кушлинский Николай

Евгеньевич – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии¹

пролиферативную, но и инвазивную и ангиогенную активность клеток рака яичников, а ИФРСБ, напротив, оказывают подавляющее действие на эти процессы [8, 9]. В отдельных исследованиях продемонстрировано неблагоприятное прогностическое значение высокой экспрессии ИФР-I [10], ИФР-II [11, 12] при некоторых гистологических типах эпителиального рака яичников. Однако данные о роли сывороточных уровней ИФР и ИФРСБ в диагностике, мониторинге, а также оценке риска возникновения и прогнозе рака яичников немногочисленны и достаточно противоречивы, что указывает на необходимость дальнейшего изучения этого вопроса [13, 14, 15]. Еще одной важной причиной для исследования роли системы ИФР при раке яичников является возможность использования специфических («таргетных») ингибиторов ее активности, ряд из которых уже проходят клинические испытания, в том числе и при раке яичников [16, 17].

Все вышеизложенное определило цель и задачи данного исследования: 1) используя количественные иммуноферментные тесты, провести сравнительную оценку содержания ИФР-I, ИФР-II и ИФРСБ 1, 2 и 3-го типа в опухолях и сыворотке крови больных раком, доброкачественными и пограничными новообразованиями яичников, а также в сыворотке крови здоровых женщин соответствующего возраста; 2) проанализировать взаимосвязь этих показателей с основными клинико-морфологическими особенностями рака яичников; 3) на основании полученных результатов оценить клинические перспективы определения данных маркеров для диагностики, мониторинга и прогноза рака яичников.

Материал и методы

В исследование включены 104 больных новообразованиями яичников в возрасте от 20 до 82 лет (медиана – 54,5 года), проходивших обследование и лечение в РОНЦ им. Н.Н. Блохина в период с марта 2007 по май 2014 г. Из 104 обследованных пациенток у 16 (15%) выявлены доброкачественные новообразования яичников, у 14 (14%) – пограничные и у 74 (71%) – рак яичников. В качестве контроля обследовали 77 практически здоровых женщин в возрасте от 24 до 84 лет (медиана – 49 лет).

У 3 из 16 больных доброкачественными опухолями яичников выявлен серозный вариант

¹ ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

² ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России; 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4, Российская Федерация



гистологического строения, у 3 – эндометриодный, у 5 – другие эпителиальные варианты; еще у 5 пациенток обнаружены различные неэпителиальные доброкачественные опухоли яичников. Среди больных пограничными опухолями у 9 (64%) они имели серозный и у 5 (36%) – муцинозный гистологический тип.

Шестидесяти двум (84%) больным злокачественными опухолями яичников диагноз был установлен впервые, 12 (16%) – повторно. Пятьдесят три (72%) больных находились в постменопаузе, 21 (28%) – в репродуктивном периоде. У 13 пациенток диагностирована I стадия заболевания по классификации FIGO (International Federation of Gynaecology and Obstetrics – Международная федерация акушеров и гинекологов), у 4 – II, у 39 – III и у 13 – IV; у 5 пациенток стадия точно не установлена. Преобладали больные с распространенным процессом (IIIc и IV стадии) – 45 (70%). Среди исследованных опухолей большинство составили серозные цистаденокарциномы (69%), на втором месте были муцинозные аденокарциномы (11%), выявлено также 4 эндометриодных аденокарциномы (5%) и 3 светлоклеточных рака (4%). Другие эпителиальные злокачественные опухоли представлены единичными наблюдениями. Преобладали опухоли умеренной и низкой степени дифференцировки (36 и 38% соответственно). Уровни СА-125 в сыворотке крови определены у 74 больных раком яичников и колебались от 3 до 29200 Ед/л (медиана 333 Ед/л).

Содержание исследуемых белков определяли в экстрактах опухолей яичников [13] и в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до операции. Образцы опухолей (200–500 мг) для исследования брали во время операции и хранили при -70 °С до начала обработки. Определение уровня маркеров проводили с помощью стандартных наборов для прямого иммуноферментного анализа IGF-I-ELISA, IGF-II-ELISA, IGFBP-1-ELISA, IGFBP-2-ELISA и IGFBP-3-ELISA (Mediagnost, Германия) в соответствии с инструкциями производителя.

При сопоставлении показателей использовали непараметрические критерии: Манна – Уитни при сравнении двух независимых групп, медианный тест или тест Краскела – Уоллиса при сравнении нескольких групп. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. В таблицах представлены медианы и квартили значений. Выживаемость больных оценивали методом Каплана – Мейера, а также с помощью регрессионной многофакторной модели Кокса.

Результаты

На первом этапе статистического анализа сопоставили содержание исследованных ИФР и ИФРСБ в доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях яичников (табл. 1). Статистически значимых различий содержания ИФР-I, II и ИФРСБ-1, 3 в опухолях больных различными новообразованиями яичников не выявлено. Более того, уровни ИФР-I, ИФР-II и ИФРСБ-1 в доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях были практически одинаковыми. При этом уровень ИФРСБ-2 в ткани рака яичников оказался достоверно выше, чем в пограничных опухолях, а также существенно выше, чем в доброкачественных опухолях.

Следовательно, нам не удалось подтвердить продемонстрированное некоторыми исследователями увеличение экспрессии ИФР-I и ИФР-II в ткани рака яичников [10, 11, 12, 18]. Следует отметить, однако, что во всех этих работах, за исключением J. Brokaw и соавт. [10], проводилось определение соответствующих матричных рибонуклеиновых кислот (мРНК), отражающих только локальную внутриопухольную экспрессию. В то же время содержание белка в опухолевой ткани является результирующей его эндогенного синтеза и экзогенного поступления из других органов и тканей, что может быть особенно значимо для ИФР, обладающих в отличие от большинства полипептидных факторов роста большим эндокринным потенциалом. Кроме того, контрольным

Таблица 1. Содержание ИФР и ИФР-связывающих белков в доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях яичников

Опухоли яичников	Содержание маркера, нг/мг белка				
	ИФР-I	ИФР-II	ИФРСБ-1	ИФРСБ-2	ИФРСБ-3
Доброкачественные (группа 1)	1,4 (1,2; 1,9)	0,4 (0,4; 0,6)	0,1 (0,08; 0,12)	6,4 (6,4; 6,4)	6,5 (6,0–6,7)
Пограничные (группа 2)	1,6 (0,8; 2,3)	0,4 (0,2; 0,5)	0,1 (0,03; 0,12)	16,6* (6,3; 65,9)	6,1 (5,2–6,6)
Злокачественные (группа 3)	1,3 (0; 2,0)	0,4 (0,3; 0,8)	0,1 (0,05; 0,35)	118 (54,5; 154)	8,9 (5,5–11,6)

Данные представлены в виде медианы (нижнего; верхнего квартилей)

* $p = 0,025$ при сравнении группы 2 с группой 3

**Таблица 2.** Содержание ИФР-I, ИФР-II, ИФРСБ-1, ИФРСБ-2 и ИФРСБ-3 в сыворотке крови пациенток контрольной группы и больных новообразованиями яичников

Группа	Содержание в сыворотке крови				
	ИФР-I	ИФР-II	ИФРСБ-1	ИФРСБ-2	ИФРСБ-3
	нг/мл				мкг/мл
Контроль (группа 0)	144 (114; 200)	772 (620; 1008)	2,9 (1,4; 6,2)	206 (142; 351)	2,5 (2,2; 3,6)
95% доверительный интервал контроля	87–329	493–1413	0,6–14,9	77,8–650	1,8–6,0
Больные ДОЯ (группа 1)	134 (111; 179)	862 (700; 1337)	2,5 (0,7; 5,5)	208 (168; 276)	3,6 (2,6; 4,6)
Больные ПОЯ (группа 2)	131 (82,7; 209)	1021 (659; 2140)	1,4 (0,5; 1,4)	273 (245; 929)	3,4 (2,4; 4,2)
Больные ЗОЯ (группа 3)	88,4 (70,0; 132)	1189 (721; 1635)	9,0 (5,1; 22,2)	828 (476; 1175)	2,8 (2,3; 3,9)

ДОЯ – доброкачественные опухоли яичников, ПОЯ – пограничные опухоли яичников, ЗОЯ – злокачественные опухоли яичников

Данные представлены в виде медианы (нижнего; верхнего квартилей). Использован критерий Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks. ИФР-I: $p_{0vs3} < 0,0001$, $p_{1vs3} = 0,018$; ИФР-II: $p_{0vs3} = 0,0007$; ИФРСБ-1: $p_{0vs3} < 0,0001$, $p_{1vs3} < 0,001$, $p_{2vs3} = 0,002$; ИФРСБ-2: $p_{0vs3} < 0,0001$, $p_{1vs3} < 0,0001$, $p_{2vs3} = 0,007$

материалом в этих исследованиях была неизменная ткань яичников, которой в нашем распоряжении не было. Обнаруженное нами повышение содержания ИФРСБ-2 в опухолевой ткани соответствует данным единственного опубликованного на эту тему исследования, посвященного анализу экспрессии мРНК ИФРСБ-2 [19]. Данные литературы по экспрессии ИФРСБ-3 в опухолях противоречивы, а экспрессия или содержание ИФРСБ-1 в ткани рака яичников вообще не изучались.

Анализ взаимосвязи концентраций исследованных маркеров в опухолях с основными клинико-морфологическими характеристиками рака яичников – возрастом и репродуктивным статусом пациентов, стадией заболелвания по классификации FIGO, размером первичной опухоли, характером и масштабом диссеминации по брюшине и метастазирования в большой сальник, наличием и объемом асцита – не выявил достоверных и значимых корреляций.

Важным аспектом изучения уровня биологических маркеров в сыворотке крови является возможность их использования для дифференциальной диагностики и/или мониторинга эффекта лечения. Известно, что уровень ИФР и ИФРСБ в сыворотке крови может меняться с возрастом [20, 21], но ни в одной из обследованных нами групп пациенток, включая группу контроля, значимого влияния возраста на изучаемые показатели не обнаружено, что позволило не учитывать возрастной фактор при дальнейшем анализе (табл. 2).

Представленные в литературе данные об изменении уровней ИФР и/или ИФРСБ в сыворотке крови больных раком яичников достаточно противоречивы. Тем не менее выявленные нами

нарушения в целом совпадают с результатами других авторов [14, 22, 23], но так же, как и эти данные, находятся в определенном противоречии с результатами некоторых эпидемиологических исследований, свидетельствующих о связи высоких сывороточных уровней ИФР-I с риском развития рака яичников в определенных возрастных группах [15]. Отметим, тем не менее, что совместный анализ данных трех когортных исследований не подтвердил влияния содержания компонентов системы ИФР в сыворотке крови на риск развития рака яичников [24].

В процессе настоящего исследования выявлено четыре потенциальных серологических маркера рака яичников. По результатам первичного анализа степень их значимости можно расположить следующим образом: ИФРСБ-2 > ИФРСБ-1 > ИФР-II > ИФР-I. Такая оценка основана на том, что уровень ИФРСБ-2 в сыворотке крови больных раком яичников отличается не только от контроля, но и от показателей больных доброкачественными и пограничными опухолями, ИФРСБ-1 – только от контроля и группы больных доброкачественными новообразованиями яичников, ИФР-II – только от показателей группы контроля. Потенциальная значимость ИФР-I для диагностики и в особенности для последующего мониторинга рака яичников ограничена тем, что его уровень в сыворотке крови больных раком яичников не повышается, а снижается. Следовательно, изменения уровня этого маркера в сыворотке крови не связаны с его продукцией опухолевыми клетками, а скорее всего, отражают общие изменения метаболизма на фоне такого тяжелого заболелвания, как рак яичников.

Проанализировав диагностические характеристики предполагаемых маркеров методом

**Таблица 3.** Информативность сывороточных уровней ИФР и ИФРСБ – диагностических маркеров рака яичников и пограничных опухолей яичников, %

Разделяемые группы	Информативность	Маркер		
		ИФР-I	ИФРСБ-1	ИФРСБ-2
		< 125 нг/мл	> 4,8 нг/мл	> 370 нг/мл
(Контроль) vs (ЗОЯ)	чувствительность	71	79	87
	специфичность	74	74	79
(Контроль + ДОЯ) vs (ПОЯ + ЗОЯ)	чувствительность	70	72	77
	специфичность	68	70	79

ЗОЯ – злокачественные опухоли яичников, ДОЯ – доброкачественные опухоли яичников, ПОЯ – пограничные опухоли яичников

построения кривых ROC, мы выявили три достаточно чувствительных и специфичных серологических маркера рака яичников – ИФРСБ-2, ИФРСБ-1 и ИФР-I (табл. 3). Наилучшее соотношение диагностической чувствительности и специфичности продемонстрировано для ИФРСБ-2: при пороговом значении 370 нг/мл эти показатели равны 87 и 79% соответственно, причем высокая специфичность наблюдается не только по отношению к так называемому здоровому контролю, но и по отношению к пациенткам с доброкачественными новообразованиями яичников (патологический контроль). Следующим по значимости маркером является ИФРСБ-1: его максимальная чувствительность при пороговом уровне 4,8 нг/мл составляет 79%, специфичность по отношению к «здоровому» контролю – 74%, по отношению к «здоровому» и патологическому контролю – 70%. Достаточно хорошими диагностическими параметрами (чувствительность 71%, специфичность 74%) по отношению к «здоровому» контролю характеризовалось и снижение уровня ИФР-I менее

125 нг/мл. В то же время максимальные чувствительность и специфичность ИФР-II не превышали 61 и 69% соответственно. Чувствительность всех маркеров, кроме ИФР-I, при включении в диагностируемую группу больных пограничными опухолями яичников заметно снижалась (см. табл. 3).

Представлялось важным оценить также специфичность изучаемых маркеров для рака яичников по сравнению с другими злокачественными новообразованиями. Для сравнительной оценки были использованы данные о содержании ИФР-I, II и некоторых ИФРСБ в сыворотке крови больных раком молочной железы [25], шейки матки [26] и женщин, больных раком толстой кишки [27], полученные нами в тот же период времени и теми же методами (табл. 4). Наибольший интерес представлял ИФРСБ-2 как самый информативный из исследованных маркеров рака яичников. Он был определен только у больных раком толстой кишки, при котором его диагностическая чувствительность при выбранной границе 370 нг/мл составила 77%.

Таблица 4. Содержание ИФР и ИФРСБ в сыворотке крови больных раком яичников и другими злокачественными новообразованиями

Группа	Содержание маркера, нг/мл			
	ИФР-I	ИФР-II	ИФРСБ-1	ИФРСБ-2
Контроль (группа 0)	144 (114; 200)	772 (620; 1008)	2,9 (1,4; 6,2)	206 (142; 351)
Рак яичников (группа 1)	88,4 (70,0; 132)	1189 (721; 1635)	9,0 (5,1; 22,2)	828 (476; 1175)
Рак толстой кишки (группа 2)	157 (106; 199)	835 (690; 910)	3,2 (1,3; 5,4)	707 (396; 1094)
Рак молочной железы (группа 3)	93,8 (76,1; 120)	2522 (2014; 2835)	–	–
Рак шейки матки (группа 4)	122 (91,3; 169)	1312 (1023; 1545)	19,8 (10,7; 29,5)	–

Данные представлены в виде медианы (нижнего; верхнего квартилей)

ИФР-I: $p_{1vs2} < 0,0001$; ИФР-II: $p_{1vs2} = 0,001$, $p_{0vs3} < 0,0001$; ИФРСБ-1: $p_{1vs2} < 0,0001$; ИФРСБ-2: $p_{0vs1} < 0,0001$, $p_{0vs2} < 0,001$

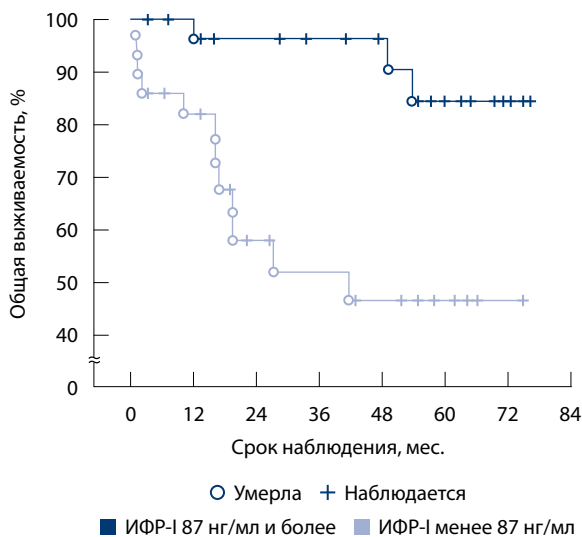


Рис. 1. Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от содержания ИФР-1 в сыворотке крови

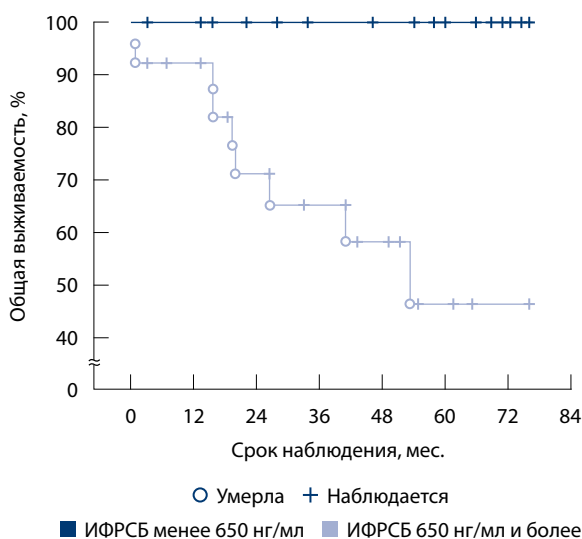


Рис. 2. Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от содержания ИФРСБ-2 в сыворотке крови

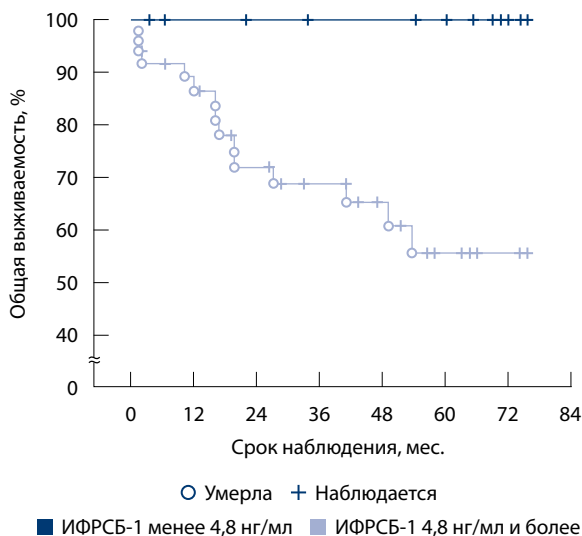


Рис. 3. Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от содержания ИФРСБ-1 в сыворотке крови

Таким образом, повышенный уровень ИФРСБ-2 в сыворотке крови женщин может указывать как на наличие рака яичников, так и на наличие рака толстой кишки. В то же время исследование комплекса из трех маркеров (ИФР-I, ИФРСБ-2 и ИФРСБ-1) позволяет достаточно хорошо различить эти два заболевания, отдельные симптомы которых совпадают, так как в отличие от больных раком яичников уровень ИФР-I у больных раком толстой кишки повышен, а уровень ИФРСБ-1 не отличается от нормы (см. табл. 4).

Анализ взаимосвязи содержания ИФР и ИФРСБ в сыворотке крови первичных больных раком яичников с основными показателями распространенности опухоли продемонстрировал, что уровни ИФРСБ-2, ИФРСБ-1 и ИФР-I зависят от степени распространенности рака яичников, соответственно, увеличиваясь (ИФРСБ-1 и 2) или снижаясь (ИФР-I) по мере развития опухолевого процесса. При этом ИФРСБ-2 остается значимым диагностическим маркером даже при Ia–Ib стадии заболевания – он был повышен у всех 6 больных с данными стадиями, вошедших в наше исследование. Уровень ИФР-I значимо меняется только при достаточно распространенном процессе (начиная со стадии Ic). Уровень ИФРСБ-2 в сыворотке крови больных раком яичников достоверно положительно коррелировал с уровнем СА-125 ($R=0,39$; $p=0,003$), что еще раз подтверждает потенциальную диагностическую значимость этого маркера.

Нам удалось проследить судьбу 64 из 74 обследованных больных раком яичников на протяжении от 1 до 76,3 месяца (медиана – 27,6 месяца). На основании этих данных было оценено прогностическое значение изучаемых показателей для общей выживаемости пациенток. В результате однофакторного анализа с построением кривых Каплана – Мейера нами выявлено 5 статистически значимых прогностически неблагоприятных факторов: уровень ИФР-I в сыворотке крови ниже 87 нг/мл (рис. 1; $p < 0,001$), уровень ИФРСБ-2 в сыворотке выше 650 нг/мл (рис. 2; $p < 0,01$), уровень ИФРСБ-1 выше 4,8 нг/мл (рис. 3; $p < 0,01$), а также содержание ИФР-II в опухоли выше 0,6 нг/мг белка и содержание ИФРСБ-1 выше 0,2 нг/мг белка (табл. 5).

При многофакторном анализе независимое прогностическое значение сохранилось только для уровня ИФР-I в сыворотке крови. Тем не менее можно констатировать, что все выявленные нами диагностические серологические маркеры имеют определенное значение и для прогноза общей выживаемости больных раком яичников.



Таблица 5. Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от содержания ИФР-II и ИФРСБ-1 в ткани опухоли

Маркер	N	Медиана выживаемости, мес.	Общая выживаемость, %				p
ИФР-II, нг/мг белка							
< 0,6	13	–	100	100	100	–	0,04
³ > 0,6	19	30,9	73,7 ± 11,5	58,9 ± 13,1	51,6 ± 13,4	42,9 ± 13,6	
ИФРСБ-1, нг/мг белка							
< 0,2	14	–	100	100	100	–	0,03
³ > 0,2	18	29,8	73,1 ± 11,7	58,5 ± 13,1	51,2 ± 13,4	42,6 ± 13,6	

Заключение

Проведенное иммуноферментное исследование содержания ИФР-I и II и нескольких ключевых ИФРСБ в сыворотке крови, опухолевой ткани и асцитической жидкости больных злокачественными,

пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников продемонстрировало существенные нарушения баланса ИФР/ИФРСБ у больных раком яичников и позволило предложить комплекс диагностических серологических тестов, при помощи которых можно с высокой чувствительностью и специфичностью выявлять злокачественные, а в некоторых случаях и пограничные опухоли яичников. Наиболее перспективным маркером оказался ИФРСБ-2: его диагностическая специфичность приближается к 80%, а чувствительность для рака яичников превышает 85% даже на самых ранних стадиях заболевания. Выявленные диагностические серологические маркеры влияют также на прогноз общей выживаемости больных, причем низкий уровень ИФР-I имеет независимое неблагоприятное прогностическое значение по данным многофакторного анализа; на прогноз заболевания влияет также содержание ИФР-II и ИФРСБ-1 в ткани опухоли. ☺

Литература

- Сергеева НС, Маршутина НВ, Алентов ИИ, Корнеева ИА, Новикова ЕФ. Серологические опухолеассоциированные маркеры СА125 и HE4 у больных раком яичников. Вопросы онкологии. 2013;59(2):12–21.
- Костылева ОИ, Герштейн ЕС, Дигаева МА, Овчинникова ЛК, Бакирханов СК. Инсулиноподобные факторы роста, их рецепторы и связывающие белки как патогенетические факторы и потенциальные мишени терапии в онкологии. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2009;7(6):3–8.
- Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Pezzino V, Squatrito S, Belfiore A, Vigneri R. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases. Arch Physiol Biochem. 2008;114(1):23–37. doi: 10.1080/13813450801969715.
- Butt AJ, Fraley KA, Firth SM, Baxter RC. IGF-binding protein-3-induced growth inhibition and apoptosis do not require cell surface binding and nuclear translocation in human breast cancer cells. Endocrinology. 2002;143(7):2693–9.
- Wang GK, Hu L, Fuller GN, Zhang W. An interaction between insulin-like growth factor-binding protein 2 (IGFBP2) and integrin alpha 5 is essential for IGFBP2-induced cell mobility. J Biol Chem. 2006;281(20):14085–91.
- An Y, Cai L, Wang Y, Zhu D, Guan Y, Zheng J. Local expression of insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-I receptor, and estrogen receptor alpha in ovarian cancer. Onkologie. 2009;32(11):638–44. doi: 10.1159/000242253.
- Weroha SJ, Haluska P. The insulin-like growth factor system in cancer. Endocrinol Metab Clin North Am. 2012;41(2):335–50. vi. doi: 10.1016/j.ecl.2012.04.014.
- Rho SB, Dong SM, Kang S, Seo SS, Yoo CW, Lee DO, Woo JS, Park SY. Insulin-like growth factor-binding protein-5 (IGFBP-5) acts as a tumor suppressor by inhibiting angiogenesis. Carcinogenesis. 2008;29(11):2106–11. doi: 10.1093/carcin/bgn206.
- Shao M, Hollar S, Chambliss D, Schmitt J, Emerson R, Chelladurai B, Perkins S, Ivan M, Matei D. Targeting the insulin growth factor and the vascular endothelial growth factor pathways in ovarian cancer. Mol Cancer Ther. 2012;11(7):1576–86. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0961.
- 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.
- Lu L, Katsaros D, Wiley A, Rigault de la Longrais IA, Puopolo M, Schwartz P, Yu H. Promoter-specific transcription of insulin-like growth factor-II in epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol. 2006;103(3):990–5.
- Sayer RA, Lancaster JM, Pittman J, Gray J, Whitaker R, Marks JR, Berchuck A. High insulin-like growth factor-2 (IGF-2) gene expression is an independent predictor of poor survival for patients with advanced stage serous epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol. 2005;96(2):355–61.
- Герштейн ЕС, Исаева ЭР, Кушлинский ДН, Короткова ЕА, Ермилова ВД, Лактионов КП, Адамян ЛВ. Инсулиноподобные факторы роста (ИФР) и ИФР-связывающие белки в сыворотке крови и опухолях больных с новообразованиями яичников. Молекулярная медицина. 2014;(4):52–6.
- Baron-Hay S, Boyle F, Ferrier A, Scott C. Elevated serum insulin-like growth factor binding protein-2 as a prognostic marker in patients with ovarian cancer. Clin Cancer Res. 2004;10(5):1796–806.
- Peeters PH, Lukanova A, Allen N, Berrino F, Key T, Dossus L, Rinaldi S, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita HB, Boeing H, Schulz M, Chang-Claude J, Linseisen J, Panico S, Sacerdote C, Palli D, Tumino R, Trichopoulou A, Trichopolos D, Bamia C, Larranaga N, Ardanaz E, Pera G, Quirós JR, Martínez-García C, Navarro C, Bingham SA, Khaw KT, Clavel F, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Tetsche MS, Lund E, Lundin E, Berglund G, Riboli E, Kaaks R. Serum IGF-I, its major binding protein (IGFBP-3) and epithelial ovarian cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Endocr Relat Cancer. 2007;14(1):81–90.
- 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.
- Gershtein E, Kushlinskii N. Clinical prospects of IGF-signaling system components study in ovarian cancer patients. Drug Metabol Personal Ther. 2015;30(2):75–85. doi: 10.1515/dmd-2014-0037.



18. Spentzos D, Cannistra SA, Grall F, Levine DA, Pillay K, Libermann TA, Mantzoros CS. IGF axis gene expression patterns are prognostic of survival in epithelial ovarian cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2007;14(3):781–90.
19. Lancaster JM, Sayer RA, Blanchette C, Calingaert B, Konidari I, Gray J, Schildkraut J, Schomberg DW, Marks JR, Berchuck A. High expression of insulin-like growth factor binding protein-2 messenger RNA in epithelial ovarian cancers produces elevated preoperative serum levels. *Int J Gynecol Cancer*. 2006;16(4):1529–35.
20. Arcidiacono B, Iiritano S, Nocera A, Possidente K, Nevolo MT, Ventura V, Foti D, Chiefari E, Brunetti A. Insulin resistance and cancer risk: an overview of the pathogenetic mechanisms. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:789174. doi: 10.1155/2012/789174.
21. Bese T, Nomir SK. The importance of serum insulin-like growth factor-I level determination in the follow-up of patients with epithelial ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2001;22(5):372–6.
22. Flyvbjerg A, Mogensen O, Mogensen B, Nielsen OS. Elevated serum insulin-like growth factor-binding protein 2 (IGFBP-2) and decreased IGFBP-3 in epithelial ovarian cancer: correlation with cancer antigen 125 and tumor-associated trypsin inhibitor. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(7):2308–13.
23. Shah NG, Bhatavdekar JM, Doctor SS, Suthar TP, Balar DB, Dave RS. Circulating epidermal growth factor (EGF) and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Neoplasma*. 1994;41(5):241–3.
24. Tworoger SS, Lee IM, Buring JE, Pollak MN, Hankinson SE. Insulin-like growth factors and ovarian cancer risk: a nested case-control study in three cohorts. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(8):1691–5.
25. Масляев АВ, Костылева ОИ, Герштейн ЕС, Ермилова ВД, Грицкевич МВ, Портной СМ. Инсулиноподобные факторы роста в сыворотке крови больных раком молочной железы. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2012;(10):16–20.
26. Короленкова ЛИ, Кушлинский ДН, Герштейн ЕС, Ермилова ВД, Дворова ЕК. Инсулиноподобные факторы роста сыворотки крови больных цервикальной интраэпителиальной гиперплазией и инвазивным раком шейки матки как перспективные маркеры прогрессии заболевания. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2012;(10):21–5.
27. Кушлинский НЕ, Герштейн ЕС, Николаев АА, Делекторская ВВ, Короткова ЕА, Дворова ЕК, Костылева ОИ. Инсулиноподобные факторы роста (IGF), связывающие IGF белки (IGFBP) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) в сыворотке крови больных колоректальным раком. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013;156(11):632–6.
1. Sergeeva NS, Marshutina NV, Alentov II, Korneva IA, Novikova EG. Serologicheskie opukholeassotsirovannyye markery SA125 i NE4 u bol'nykh rakom yaichnikov [Serum tumor markers CA125 and HE4 in ovary cancer patients]. *Voprosy onkologii [Problems in oncology]*. 2013;59(2):12–21 (in Russian).
2. Kostyleva OI, Gershteyn ES, Digaeva MA, Ovchinnikova LK, Bakirkhanov SK. Insulinopodobnyye factory rosta, ikh retseptory i svyazyvayushchie belki kak patogeneticheskie faktory i potentsial'nye misheni terapii v onkologii [Insulin-like growth factors, their receptors and binding proteins as pathogenetic factors and therapeutic targets in oncology]. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*. 2009;7(6):3–8 (in Russian).
3. Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Pezzino V, Squatrito S, Belfiore A, Vigneri R. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases. *Arch Physiol Biochem*. 2008;114(1):23–37. doi: 10.1080/13813450801969715.
4. Butt AJ, Fraley KA, Firth SM, Baxter RC. IGF-binding protein-3-induced growth inhibition and apoptosis do not require cell surface binding and nuclear translocation in human breast cancer cells. *Endocrinology*. 2002;143(7):2693–9.
5. Wang GK, Hu L, Fuller GN, Zhang W. An interaction between insulin-like growth factor-binding protein 2 (IGFBP2) and integrin alpha5 is essential for IGFBP2-induced cell mobility. *J Biol Chem*. 2006;281(20):14085–91.
6. An Y, Cai L, Wang Y, Zhu D, Guan Y, Zheng J. Local expression of insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-I receptor, and estrogen receptor alpha in ovarian cancer. *Onkologie*. 2009;32(11):638–44. doi: 10.1159/000242253.
7. Weroha SJ, Haluska P. The insulin-like growth factor system in cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2012;41(2):335–50, vi. doi: 10.1016/j.ecl.2012.04.014.
8. Rho SB, Dong SM, Kang S, Seo SS, Yoo CW, Lee DO, Woo JS, Park SY. Insulin-like growth factor-binding protein-5 (IGFBP-5) acts as a tumor suppressor by inhibiting angiogenesis. *Carcinogenesis*. 2008;29(11):2106–11. doi: 10.1093/carcin/bgn206.
9. Shao M, Hollar S, Chambliss D, Schmitt J, Emerson R, Chelladurai B, Perkins S, Ivan M, Matei D. Targeting the insulin growth factor and the vascular endothelial growth factor pathways in ovarian cancer. *Mol Cancer Ther*. 2012;11(7):1576–86. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0961.
10. 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.
11. Lu L, Katsaros D, Wiley A, Rigault de la Longrais IA, Puopolo M, Schwartz P, Yu H. Promoter-specific transcription of insulin-like growth factor-II in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2006;103(3):990–5.
12. Sayer RA, Lancaster JM, Pittman J, Gray J, Whitaker R, Marks JR, Berchuck A. High insulin-like growth factor-2 (IGF-2) gene expression is an independent predictor of poor survival for patients with advanced stage serous epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2005;96(2):355–61.
13. Gershteyn ES, Isaeva ER, Kushlinskiy DN, Korotkova EA, Ermilova VD, Laktionov KP, Adamyan LV. Insulinopodobnyye faktory rosta (IFR) i IFR-svyazyvayushchie belki v syvorotke krovi i opukholyakh bol'nykh s novoobrazovaniyami yaichnikov [Insulin-like growth factors (IGF) and IGF binding proteins in blood serum and tumors of ovarian tumor patients]. *Molekulyarnaya meditsina [Molecular medicine]*. 2014;(4):52–6 (in Russian).
14. Baron-Hay S, Boyle F, Ferrier A, Scott C. Elevated serum insulin-like growth factor binding protein-2 as a prognostic marker in patients with ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2004;10(5):1796–806.
15. Peeters PH, Lukanova A, Allen N, Berrino F, Key T, Dossus L, Rinaldi S, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita HB, Boeing H, Schulz M, Chang-Claude J, Linseisen J, Panico S, Sacerdote C, Palli D, Tumino R, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Bamia C, Larranaga N, Ardanaz E, Pera G, Quirós JR, Martínez-García C, Navarro C, Bingham SA, Khaw KT, Clavel F, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Tetsche MS, Lund E, Lundin E, Berglund G, Riboli E, Kaaks R. Serum IGF-I, its major binding protein (IGFBP-3) and epithelial ovarian cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Endocr Relat Cancer*. 2007;14(1):81–90.
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. Gershteyn E, Kushlinskiy N. Clinical prospects of IGF-signaling system components study in ovarian cancer patients. *Drug Metabol Person-*



- al Ther. 2015;30(2):75–85. doi: 10.1515/dmdi-2014-0037.
18. Spentzos D, Cannistra SA, Grall F, Levine DA, Pillay K, Libermann TA, Mantzoros CS. IGF axis gene expression patterns are prognostic of survival in epithelial ovarian cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2007;14(3):781–90.
 19. Lancaster JM, Sayer RA, Blanchette C, Calingaert B, Konidari I, Gray J, Schildkraut J, Schomberg DW, Marks JR, Berchuck A. High expression of insulin-like growth factor binding protein-2 messenger RNA in epithelial ovarian cancers produces elevated preoperative serum levels. *Int J Gynecol Cancer*. 2006;16(4):1529–35.
 20. Arcidiacono B, Iiritano S, Nocera A, Possidente K, Nevolo MT, Ventura V, Foti D, Chiefari E, Brunetti A. Insulin resistance and cancer risk: an overview of the pathogenetic mechanisms. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:789174. doi: 10.1155/2012/789174.
 21. Bese T, Nomir SK. The importance of serum insulin-like growth factor-I level determination in the follow-up of patients with epithelial ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2001;22(5):372–6.
 22. Flyvbjerg A, Mogensen O, Mogensen B, Nielsen OS. Elevated serum insulin-like growth factor-binding protein 2 (IGFBP-2) and decreased IGFBP-3 in epithelial ovarian cancer: correlation with cancer antigen 125 and tumor-associated trypsin inhibitor. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(7):2308–13.
 23. Shah NG, Bhatavdekar JM, Doctor SS, Suthar TP, Balar DB, Dave RS. Circulating epidermal growth factor (EGF) and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Neoplasma*. 1994;41(5):241–3.
 24. Tworoger SS, Lee IM, Buring JE, Pollak MN, Hankinson SE. Insulin-like growth factors and ovarian cancer risk: a nested case-control study in three cohorts. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(8):1691–5.
 25. Maslyaev AV, Kostyleva OI, Gershteyn ES, Ermilova VD, Gritskevich MV, Portnoy SM. Insulinopodobnye faktory rosta v syvorotke krovi bol'nykh rakom molochnoy zhelezy [Insulin-like growth factors in the serum of breast cancer patients]. *Voprosy biologicheskoy meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii*. 2012;(10):16–20 (in Russian).
 26. Korolenkova LI, Kushlinskiy DN, Gershteyn ES, Ermilova VD, Dvorova EK. Insulinopodobnye faktory rosta syvorotki krovi bol'nykh tservikal'noy intraepitelial'noy giperplaziej i invazivnym rakom sheyki matki kak perspektivnye markery progressii zabolevaniya [Insulin-like growth factors in serum of patients with cervical intraepithelial hyperplasia and invasive cervical cancer as promising markers of progression of the disease]. *Voprosy biologicheskoy meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii*. 2012;(10):21–5 (in Russian).
 27. Kushlinskiy NE, Gershteyn ES, Nikolaev AA, Delektorskaya VV, Korotkova EA, Dvorova EK, Kostyleva OI. Insulinopodobnye faktory rosta (IGF), svyazyvayushchie IGF belki (IGFBP) i faktor rosta endotelija sosudov (VEGF) v syvorotke krovi bol'nykh kolorektal'nym rakom [Insulin-like growth factors (IGF), IGF-binding proteins (IGFBP) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with colorectal cancer]. *Bull Exp Biol Med*. 2013;156(11):632–6 (in Russian).

Clinical implications of insulin-like growth factors (IGF) and IGF-binding proteins investigation in patients with ovarian neoplasms

Gershteyn E.S. • Kushlinskiy D.N. • Korotkova E.A. • Isaeva E.R. • Ermilova V.D. • Laktionov K.P. • Adamyan L.V. • Kushlinskii N.E.

Background: The insulin-like growth factor (IGF) signaling system plays a major role in development and progression of various malignancies including ovarian cancer, and its components are considered as potential diagnostic and prognostic markers and the objects of molecular targeted therapy.

Aim: Comparative evaluation of IGF-I and IGF-II, and IGF-binding proteins (IGFBP)-1, 2 and 3 content in blood serum and tumors of ovarian tumor patients, analysis of their associations with key clinical pathologic characteristics of ovarian cancer and evaluation of clinical value of these markers for disease diagnostics and prognosis.

Materials and methods: IGF-I, II, IGFBP-1, 2 and 3 levels were measured with standard ELISA kits (Mediagnost, Germany) in blood serum and tumor extracts of 74 patients with ovarian cancer, 16 patients with benign and 14 with borderline ovarian tumors. The control group comprised 77 healthy women.

Results: Three potential serological markers of ovarian cancer, namely IGF-I, IGFBP-1, and IGFBP-2 were revealed. The best sensitivity to specificity ratio was demonstrated for IGFBP-2: at a 370 ng/ml cut-off level, these indices were 87 and 79%, respectively. The diagnostic markers found in our study were also associated with the prognosis of overall survival in ovarian cancer. In the multivariate analysis, low IGF-I serum levels retained its independent unfavorable prognostic value. The disease prognosis is influenced also by IGF-II and IGFBP-1 content in the tumor tissue.

Conclusion: In ovarian cancer patients, there is a disbalance of IGFs/IGFBPs. Some components of this system could be potentially used as diagnostic and prognostic markers of the disease.

Key words: IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, ovarian tumors.

doi: 10.18786/2072-0505-2015-41-19-27

Gershteyn Elena Sergeevna – Doctor of Biol. Sci., Professor, Leading Research Fellow, Clinical Biochemistry Laboratory¹

✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 11 59.

E-mail: esgershtein@gmail.com

Kushlinskiy Dmitriy Nikolaevich – Surgeon/Oncogynecologist, Department of Combined and Complex Methods of Treatment of Gynecological Diseases²

Korotkova Ekaterina Andreevna – PhD (Biol.), Senior Research Fellow, Clinical Biochemistry Laboratory¹

Isaeva Emliya Rasimovna – Oncologist, Research Polyclinical Department¹

Ermilova Valeriya Dmitrievna – PhD, Leading Research Fellow, Department of Pathology¹

Laktionov Konstantin Pavlovich – MD, PhD, Professor, Head of Department of Women's Reproductive System Tumors¹

Adamyan Leyla Vladimirovna – MD, PhD, Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Deputy Director on Research²

Kushlinskii Nikolay Evgen'evich – MD, PhD, Professor, Member-Correspondent of Russian Academy of Sciences, Head of Clinical Biochemistry Laboratory¹

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

²Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V.I. Kulakov; 4 Akademika Oparina ul., Moscow, 117997, Russian Federation