



На правах рукописи

Крюк Юлия Васильевна

**Клиническая значимость матричной металлопротеиназы
2 типа и ангиогенных факторов в сыворотке крови
и опухоли больных новообразованиями яичников**

03.01.04 – биохимия

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

03 MAR 2011

Москва – 2011

Работа выполнена на кафедре клинической биохимии и лабораторно-диагностики ФПДО ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет» Росздрава

Научные руководители:

кандидат биологических наук, доцент О.М.Кузнецова
доктор медицинских наук С.Н.Блохин

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор В.Л. Козельцев
доктор биологических наук, профессор Н.С.Сергеева

Ведущая организация: ГОУ ВПО Российский Государственный медицинский университет Росздрава

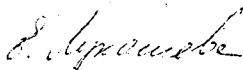
Защита диссертации состоится «18» марта 2011г. в «14.00» часов на заседании Диссертационного совета Д.212.203.13 при Российско-университете дружбы народов по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.8

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Российского университета дружбы народов по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6

Автореферат разослан «___» _____ 2011г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор биологических наук,
профессор



Е.В.Лукашева

Введение

Актуальность темы. Рак яичников (РЯ) составляет около 4-6% всех злокачественных новообразований у женщин, но по показателям смертности занимает первое место среди всех гинекологических опухолей в России и экономически развитых западных странах (А.Ф.Урманчеева и соавт., 2008; В.В.Кузнецов и соавт., 2009; Shahabi S et al., 2011). В России ежегодно выявляют более 11000 больных РЯ, что составляет 10,2:100000 женщин (В.И.Чиссов и соавт., 1998). За последние 10 лет прирост заболеваемости РЯ в России составил 8,5%.

Этиология РЯ не известна, патогенез изучен не до конца. При этом РЯ представляет гетерогенную группу новообразований (Shahabi S. et al., 2011), а поверхностный эпителий, строма и первичные половые клетки дают начало различным по гистогенезу опухолям, проявляющимся одним или одновременно несколькими гистотипами (Ozlos R., 2003).

Рак яичников считают одной из наиболее агрессивных опухолей и у большинства пациенток заболевание диагностируется на достаточно поздних стадиях, когда опухоль уже распространена по брюшине (М.И.Давыдов и соавт., 2007). Опухолевых маркеров для выявления ранних стадий РЯ не существует, за исключением СА-125, уровень которого в сыворотке крови пропорционален объему поражения, а стало быть, характерен для более запущенных стадий болезни. Поэтому, повышенный уровень СА-125 до операции может служить существенным показателем для контроля над течением болезни в период лечения и последующего наблюдения (Spriggs D., 2003).

В последние годы большой интерес привлекает исследование матриксных металлопротеиназ (ММП), которые считают одним из наиболее перспективных направлений в области изучения механизмов инвазии и метастазирования различных опухолей. И среди них ММП-2 - наиболее известна как протеаза, гидролизующая коллаген IV типа – основной компонент базальной мембраны эпителиальных опухолей, при этом она также разрушает другие существенные компоненты внеклеточного матрикса и обладает желатинолитической активностью. Регуляция активности ММП является сложным и до сих пор до конца не изученным процессом, важную роль в котором играют их тканевые ингибиторы (ТИМП). В экспериментальных исследованиях продемонстрирована важная роль ММП-2 в формировании

инвазивного потенциала клеток РЯ (Kenny H.A. et al., 2008, 2009), причем индукция ММП является одним из ключевых механизмов проявления проинвазивных эффектов эпидермального (EGF) (Ellerbroek S.M. et al., 2001a, 2001b) и β -трансформирующего (β -TGF) факторов роста (Lin S.W. et al., 2000; Nishikawa A. et al., 2000; Rodriguez G.C. et al., 2001). Показано также, что ММП-2, наряду с ММП-9 находятся в комплексном взаимодействии с ключевым активатором ангиогенеза – фактором роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor – VEGF). С одной стороны, коллагеназы индуцируют секрецию VEGF опухолевыми клетками, что способствует образованию асцита (Belotti D. et al., 2003; Manenti L. et al., 2003; Zhang A. et al., 2006), а с другой – секретируемый опухолью VEGF регулирует экспрессию коллагеназ в строме, влияя на инвазивную способность опухоли (Wang F.Q. et al., 2006; Belotti D. et al., 2008).

Представленные данные современной литературы указывают на актуальность проведения одновременного сравнительного исследования содержания VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2 и ММП-2 в сыворотке крови и ткани опухоли больных злокачественными и доброкачественными новообразованиями яичников. Трудности ранней диагностики, высокий метастатический и инвазивный потенциал РЯ определяют необходимость углубленного изучения механизмов распространения опухоли, знание которых могло бы стать основой для создания новых препаратов, целенаправленно воздействующих на процессы метастазирования и инвазии. В этой связи исследование ММП при РЯ – одно из наиболее перспективных направлений в области изучения роли этой протеолитической системы в клиническом течении заболевания.

Вместе с тем, уже не вызывает сомнения тот факт, что опухоль не может развиваться и расти без образования в ней разветвленной сети сосудов, обеспечивающих снабжение клеток кислородом и питательными веществами (Folkman J., 1985; Salven et al., 1997; Piccino R. et al., 2002). Изучение молекулярных механизмов ангиогенеза позволило перейти от микроскопической оценки плотности сосудов в опухоли к исследованию конкретных молекул, участвующих в регуляции образования и роста новых сосудов в опухолевой ткани. Ведущая роль среди таких регуляторов, безусловно, принадлежит VEGF (С.В.Луценко и соавт., 2005; Ferrara et al., 1995; Donovan et al., 1997). Ряд фактов указывает на то, что VEGF не только обла-

дает проангиогенной активностью, но может и непосредственно участвовать в регуляции пролиферации клеток опухоли (Spannuth W.A. et al., 2009).

Известно, что эффекты VEGF опосредованы специфическими мембранными рецепторами и в процессах опухолевого ангиогенеза принимают участие два типа рецепторов VEGF - VEGFR-1/Flt-1 и VEGFR-2/Flk-1/KDR. Биологическая роль VEGFR-1 и VEGFR-2, по-видимому, различна: VEGFR-1 индуцирует протеазную активность в эндотелиальных клетках и стимулирует миграцию в опухолевую ткань макрофагов, а VEGFR-2 вызывает дифференцировку, пролиферацию и миграцию клеток эндотелия (Е.С.Герштейн и соавт., 2010б). Различаются ли функции двух типов рецепторов VEGF в опухолевых клетках, пока неясно.

Исследования последних лет позволили по-новому взглянуть на процессы протеолиза и неоангиогенеза в репродуктивной системе женщин, как при физиологических изменениях, так и при различных патологических состояниях, в том числе и РЯ (Artini P.G. et al., 2008; Sher I. et al., 2009). Показана роль ангиогенных факторов в процессе васкуляризации опухолей, взаимосвязь экспрессии VEGF и его рецепторов с прогнозом заболевания и эффективностью лечения, намечены новые направления терапевтических воздействий на злокачественный процесс. Все выше указанное определило актуальность проведения данного исследования.

Цель настоящего исследования – анализ клинических перспектив исследования матриксной металлопротеиназы 2 типа (ММП-2), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторов (VEGFR-1, VEGFR-2) в сыворотке крови и опухоли больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Иммуноферментным методом определить содержание ММП-2 в сыворотке крови и ткани опухоли больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников.
2. Проанализировать соотношение концентрации ММП-2 в сыворотке крови с его содержанием в первичной опухоли больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников.
3. Исследовать содержание ММП-2 в сыворотке крови и ткани опухоли больных

раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников с учетом основных клинических (возраст, стадия заболевания, наличие асцита, репродуктивный статус) и морфологических (гистологическое строение и степень дифференцировки опухоли) характеристик заболевания и сопоставить с таковыми показателями при пограничных и доброкачественных опухолях яичников.

4. Изучить взаимосвязь содержания ММП-2, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2 в сыворотке крови и опухоли больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников с уровнем сывороточного опухолевого маркера СА-125.
5. Изучить возможность комплексного использования клинических, морфологических факторов и биохимических маркеров (ММП-2, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2, СА-125) в диагностике, оценке инвазивного и метастатического потенциала новообразований яичников.

Научная новизна исследования

Впервые в отечественной практике проведено одновременное сравнительное иммуноферментное определение содержания нескольких биохимических маркеров (ММП-2, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2, СА-125) в сыворотке крови и опухоли больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников с учетом их связи с основными клинико-морфологическими характеристиками опухоли.

Показано, что уровни ММП-2 в сыворотке крови практически здоровых женщин, больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников достоверно не различались. При этом концентрация ММП-2 в сыворотке крови больных доброкачественными новообразованиями яичников не отражала основные клинические факторы заболевания: возраст, данные гинекологического анамнеза, состояние репродуктивной функции, гистологическое строение, размер опухоли и не была связана с сопутствующими соматическими заболеваниями.

Обнаружено, что содержание ММП-2 в опухолях больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников не различалось достоверно. При этом в группе больных раком яичников установлена прямая достоверная корреляционная зависимость между содержанием ММП-2 в сыворотке крови и опухоли ($r_s=0,43$; $p=0,01$), тогда как у больных доброкачественными и погранич-

ными новообразованиями яичников этой зависимости не выявлено.

Выявлены достоверно высокие уровни ММП-2 в сыворотке крови больных с двусторонним РЯ, которые положительно коррелировали с содержанием маркера в первичной опухоли ($r_s=0,64$; $p=0,001$).

Наиболее высокие показатели ММП-2 обнаружены в сыворотке крови и опухоли при серозном РЯ, умеренной и низкой степени дифференцировки опухоли, при распространенных III и IV стадиях заболевания, при метастазах опухоли в печени, при диссеминации процесса по брюшине и при наличии асцита.

Показано, что содержание ММП-2 в сыворотке крови и опухоли не зависело от гистологического строения пограничных и доброкачественных новообразований яичников. При этом, у больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников сывороточные уровни СА-125 и ММП-2 не были связаны корреляционной зависимостью, а высокие концентрации СА-125 независимо от значений ММП-2 указывали на наличие РЯ и чаще при распространенном процессе.

Содержание VEGF в сыворотке крови практически здоровых женщин было достоверно ниже, чем в общей группе больных новообразованиями яичников (медианы соответственно 201 и 318 пг/мл; $p=0,001$), при этом более высокие медианы VEGF выявлены в сыворотке крови больных раком, чем доброкачественными и пограничными опухолями яичников (соответственно 428, 289 и 167 пг/мл). Кроме того, обнаружено усиление обратной связи между уровнями ММП-2 и VEGF в ткани первичной опухоли по мере увеличения содержания СА-125 в сыворотке крови больных новообразованиями яичников.

Не установлено достоверных различий в содержании VEGFR-1 и VEGFR-2 в сыворотке крови и опухоли больных раком, пограничными и доброкачественными опухолями яичников. Однако медиана концентрации VEGFR-1 в сыворотке крови практически здоровых женщин была достоверно выше по сравнению с больными РЯ, при этом у последних обнаружена достоверная прямая корреляционная зависимость между ММП-2 и VEGFR-1 в сыворотке крови ($r_s=0,4$; $p=0,017$), которая отсутствовала у больных доброкачественными и пограничными опухолями яичников.

У больных новообразованиями яичников всех групп обнаружена обратная

корреляционная зависимость между содержанием ММП-2 и VEGF в ткани опухоли ($r_s = -0,44$; $p = 0,0001$), которая усиливалась по мере увеличения концентрации СА-125 в сыворотке крови.

Практическая значимость исследования

Значения СА-125 менее 100 Ед/мл, соотношение VEGF/VEGFR-1 менее 5 и уровни ММП-2 в пределах нормы (160-303 нг/мл) выявлены у 73,3% больных доброкачественными, у 28,6% пограничными и только у 16,1% больных РЯ ($p = 0,003$), что может быть использовано для выявления пациенток с высоким риском злокачественного характера новообразования в яичниках (чувствительность теста - 83,9%; специфичность - 73,6%). Диагностическая ценность определения только СА-125 в сыворотке крови больных РЯ и доброкачественными новообразованиями яичников недостаточна (чувствительность теста - 89,2%; специфичность - 35,0%).

Высокие показатели ММП-2 и VEGF выявлены в сыворотке крови у больных РЯ с ранним прогрессированием заболевания, чем у пациенток без такового.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Уровни ММП-2 в сыворотке крови практически здоровых женщин, больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников достоверно не различалось, а концентрация ММП-2 в сыворотке крови больных доброкачественными новообразованиями яичников не отражала основные клинические характеристики заболевания (возраст, данные гинекологического анамнеза, состояние репродуктивной функции, гистологическое строение, размер опухоли) и не связана с сопутствующими соматическими заболеваниями.
2. Содержание ММП-2 в опухолях больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников не различалось достоверно.
3. Наиболее высокие показатели ММП-2 выявлены в сыворотке крови и опухоли при серозном РЯ, умеренной и низкой степени дифференцировки опухоли, III-IV стадиях заболевания, при наличии асцита. Достоверно высокие уровни ММП-2 обнаружены в сыворотке больных с двусторонним РЯ.
4. Содержание VEGF в сыворотке крови практически здоровых женщин было достоверно ниже, чем в общей группе больных новообразованиями яичников. При этом, не установлено достоверных различий в содержании VEGFR-1 и

VEGFR-2 в сыворотке крови и опухоли больных раком, пограничными и доброкачественными опухолями яичников

5. Медиана концентрации VEGFR-1 в сыворотке крови практически здоровых женщин была достоверно выше по сравнению с больными РЯ, при этом у последних обнаружена достоверная прямая корреляционная зависимость между ММП-2 и VEGFR-1 в сыворотке крови, которая отсутствовала у больных доброкачественными и пограничными опухолями яичников.
6. У больных новообразованиями яичников всех групп обнаружена обратная корреляционная зависимость между содержанием ММП-2 и VEGF в опухоли, которая усиливалась по мере увеличения концентрации СА-125 в сыворотке крови.
7. Значения СА-125 менее 100 Ед/мл, соотношение VEGF/VEGF-R1 менее 5 и уровни ММП-2 в пределах нормы (160-303 нг/мл) выявлены у 73,3% больных доброкачественными, у 28,6% пограничными и только у 16,1% больных РЯ ($p=0,003$), что может быть использовано для выявления пациенток с высоким риском злокачественного характера новообразования в яичниках. При этом, высокие показатели ММП-2 и VEGF выявлены у больных РЯ с ранним прогрессированием заболевания фоне проводимой химиотерапии.

Апробация работы

Основные результаты диссертации доложены на: XVI Российском Национальном Конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 6-10 апреля 2009г.); научно-практической конференции «Лабораторная медицина в свете Концепции развития здравоохранения России до 2020 года» (Москва, 28-30 сентября 2009г.); международной конференции «Молекулярная медицина и биобезопасность» (Москва, 10-11 ноября 2009г.); XVII Российском Национальном Конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 12-16 апреля 2010г.).

Материалы диссертации доложены на совместной научной конференции сотрудников кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики Московского Государственного медико-стоматологического университета, лаборатории клинической биохимии НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН и кафедры биохимии Российского университета дружбы народов 12 февраля 2011 г.

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, 3 из них в журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем работы

Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста, включает введение, обзор данных литературы, главу «Материалы и методы исследования», главу «Результаты собственных наблюдений», обсуждение полученных данных, выводы, список цитируемой литературы, который состоит из 52 работ отечественных и 215 работ зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 18 рисунками.

Материалы и методы исследования

В настоящее исследование включены 64 больных с новообразованиями яичников, проходивших обследование и лечение в Российском онкологическом научном центре им. Н.Н.Блохина РАМН в период с 2008 по 2009 гг. Из них 38 (59,4%) больных РЯ, 7 (11,0%) пациенток с пограничными новообразованиями яичников и 19 (29,6%) больных с доброкачественными новообразованиями яичников. Группу контроля составили 20 практически здоровых женщин.

Всем пациенткам выполняли УЗИ малого таза, брюшной полости и забрюшинного пространства, а также доплеровское трансвагинальное УЗИ. С целью уточнения распространенности опухолевого процесса больным выполняли колоноскопию, гастроскопию и маммографию. Больным проводили также КТ и МРТ исследование для анализа распространенности опухолевого процесса и связи опухоли с окружающими кровеносными сосудами, мочеточниками и органами малого таза. У некоторых больных выполняли экскреторную урографию, сцинтиграфию скелета и лапароскопию для уточнения распространенности опухолевого процесса. Стадирование РЯ проводили после хирургического удаления первичной опухоли и тщательного обследования органов малого таза, брюшной полости и забрюшинного пространства. У всех больных клинико-рентгенологический диагноз новообразованиями яичников подтвержден данными гистологического исследования удаленной опухоли.

Характеристика больных раком яичников. В исследование включено 38 больных РЯ в возрасте от 17 до 72 лет, средний возраст составил $51,0 \pm 2,2$ года из них 16 (42,1%) в репродуктивном возрасте, 22 (57,9%) пациентки – в постменопаузе. Распределение 38 больных РЯ с учетом стадии заболевания по FIGO представлено в таблице 1.

Таблица 1.

Распределение больных раком яичников с учетом стадии FIGO

Стадия по FIGO	Частота (абс. число)	Частота (отн. число)
Ia	4	10,5%
Ic	7	18,4%
IIa	2	5,3%
IIb	1	2,6%
IIIa	1	2,6%
IIIb	2	5,3%
IIIc	15	39,5%
IV	6	15,8%
Всего	38	100%

При гистологическом исследовании опухолей яичников выявлены следующие их варианты: серозная (25/65,8%), эндометриоидная (7/13,7%) и муцинозная (2/5,2%) аденокарциномы, светлоклеточный (1/2,6%) и смешанный (3/7,8%) рак.

У 9 из 20 (45%) первичных больных опухоль имела низкую степень дифференцировки. Частота выявления низкой степени дифференцировки составила 2 из 8 (18,2%) у больных с I-II стадиями и 7 из 11 (63,6%) у больных с III-IV стадиями РЯ ($p=0,066$). Высокая и умеренная степень дифференцировки РЯ выявлена в 7/35% и 9/45% наблюдений соответственно. У 18 больных степень дифференцировки опухоли не определена ввиду проведения неoadъювантной химиотерапии.

У 24 из 38 (63,1%) больных выявлен двусторонний РЯ, который имел строение серозной аденокарциномы (84,0%).

У 9 (23,7%) больных выявлен асцит объемом от 2 до 10 л (все 9 пациенток с серозной аденокарциномой яичников, у 29 (76,3%) - асцит не выявили).

Всем 38 больным РЯ было проведено стандартное хирургическое лечение: удаление матки с придатками и резекция большого сальника. В послеоперационном периоде все они получали адъювантную химиотерапию. У 18 больных проведена неoadъювантная химиотерапия.

Характеристика больных пограничными опухолями яичников. Возраст 7 больных пограничными опухолями яичников колебался от 23 до 63 лет, составляя в среднем $42,0 \pm 9,5$ лет, из них у 4 (57,1%) была сохранена репродуктивная функция и 3 (42,9%) были в постменопаузе. У 1 пациентки (14,3%) опухоль имела серозный вариант строения, у 5 (71,4%) – муцинозный, у 1 (14,3%) – эндометриоидный. Всем больным проведено хирургическое удаление опухоли.

Характеристика больных доброкачественными новообразованиями яичников. Возраст больных доброкачественными новообразованиями яичников колебался от 17 до 78 лет, составляя в среднем $51,4 \pm 4,6$ лет. 10 больных этой группы были в репродуктивном периоде и 9 – в постменопаузе. У 6 (31,5%) больных выявлена доброкачественная эндометриоидная опухоль яичников, у 5 (26,3%) – серозная аденома, у 4 (21%) – гранулезоклеточная опухоль, у 3 (15,7%) – дермоид, по 1 (5,2%) наблюдению выявлены муцинозная аденома и тератома. 7 (36,8%) больным доброкачественными новообразованиями яичников выполнена односторонняя аднексэктомия, 1 (5,2%) – резекция одного яичника, 11 (57,8%) – аднексэктомия с резекцией контрлатерального яичника.

Таблица 2.

Содержание СА-125 в сыворотке крови больных новообразованиями яичников разных групп

Новообразования яичников	Кол-во больных	СА-125, Ед/мл, медиана (квартили)	P
Доброкачественные ¹	19	69,0 (14,0-140)	1vs3=0,005
Пограничные ²	7	98,1 (21,1-447)	
Злокачественные ³	38	236,0 (70,9-414)	

Содержание СА-125 в сыворотке крови было достоверно ниже при доброкачественных новообразованиях яичников и повышалось у больных пограничными опухолями и РЯ ($p=0,005$) (табл. 2). Высокие значения СА-125 (>100 Ед/мл) обнаружены у 71% больных РЯ (чаще при серозной аденокарциноме яичников).

Специальные биохимические методы исследования

Специальные биохимические исследования опухолевых маркеров (ММП-2, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2) проводили в сыворотке крови до лечения. Для полу-

чения сыворотки венозную кровь, взятую в чистую сухую пробирку, оставляли на 30 мин при комнатной температуре для формирования сгустка, затем центрифугировали в течение 30 мин на холоду при 4°C при 3500 об/мин при комнатной температуре. Надосадочную фракцию (сыворотку) разливали на аликвоты по 0,5 мл и хранили при -70°C до проведения иммуноферментного анализа.

Для проведения иммуноферментного анализа в опухолях и неизмененных тканях яичников получали их экстракты как описано ранее (Е.С.Герштейн и соавт., 2007). Образцы тканей лизировали в соотношении 1:3 в буфере следующего состава: 20 мМ Трис-НСl (рН 7,5), 150 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 1 мМ ЭГТА, 1% Тритон X-100, 2,5 мМ пиродифосфат натрия, 1 мМ β-глицерофосфат, 1 мМ ортованадат натрия, 1 мкг/мл леупептина. Полученные лизаты центрифугировали в течение 30 мин при 20000 об/мин, 4°C (центрифуга Optima™ TLX, Beckman, США).

ММП-2 определяли с помощью стандартного набора реактивов для прямого иммуноферментного анализа: «Human/Mouse/Rat MMP-2 (total)», (Quantikine®, «R&D Systems», США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микропланшет EL_x800 (Bio-Tek Instruments, Inc., США). Концентрацию ММП-2 в сыворотке крови выражали в нг/мл, в тканях опухолей – в нг/мг общего белка, определенного по методу Лоури.

Концентрацию VEGF, VEGFR-1 и VEGFR-2 определяли в сыворотке крови и опухолях яичников с помощью стандартных наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа: «Human VEGF Immunoassay», «Human VEGFR1 Immunoassay», «Human VEGFR2 Immunoassay» (Quantikine®, R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителя. Концентрацию исследованных показателей выражали в сыворотке крови: VEGF - в пг/мл, VEGFR-1 – в нг/мл, VEGFR-2 – в нг/мл; в ткани опухолей: VEGF – в пг/мг общего белка, VEGFR-1 – нг/мг общего белка; VEGFR-2 – в пг/мг общего белка, определенного по методу Лоури.

Концентрацию опухолевого маркера СА-125 проводили иммуноферментным методом (ELISA) в сыворотке крови до лечения и в процессе проводимой терапии с помощью стандартных наборов реактивов фирмы («Roche», Швейцария). Измерения проводили на электрохемилюминисцентном анализаторе «ЕС-300» фирмы («Roche», Швейцария).

При подозрении на гранулезоклеточную опухоль яичника у больных иммуноферментным методом определяли концентрацию ингибина В в сыворотке крови реактивами фирмы («Diagnostic Systems Laboratories, Inc.» «DSL», США).

Статистические методы исследования

При выборе статистических процедур учитывали методологические требования Международного конгресса по гармонизации GGP «Статистические принципы для клинических исследований». Все вычисления проводили на персональном компьютере с помощью пакета статистических программ «Statistica для Windows» и SPSS.

Результаты собственных исследований

Содержание ММП-2 в сыворотке крови оценено у 64 больных новообразованиями яичников, а также у 54 пациенток в опухоли (табл. 3).

Таблица 3.

Содержание ММП-2 в сыворотке крови и опухоли больных новообразованиями яичников и в контроле

ММП-2	Обследованные группы			
	Контроль	Новообразования яичников		
		Доброкачественные	Пограничные	Злокачественные
ММП-2 в сыворотке крови, нг/мл				
N	8	19	7	38
Медиана	256	229	244	212
Квартили	190-281	188-245	189-355	172-256
Пределы	161-303	102-265	182-484	105-445
ММП-2 в опухоли, нг/мг белка				
N	-	19	7	28
Медиана	-	28,4	19,2	15,5
Квартили	-	15,3-42,1	14,3-45,6	10-33
Пределы	-	8,6-106	4,8-49,7	2,9-86,7

Примечание: в опухоли $P_{\text{дня-ря}}=0,06$.

Следует указать, что распределения обоих показателей отличались от распределения Гаусса, поэтому в качестве центральной характеристики применяли медиану, а при сравнении использовали непараметрические критерии. Содержание ММП-2 в сыворотке крови больных новообразованиями яичников разных групп и в контроле не различалось достоверно ($p > 0,05$) (табл. 3). Установлено, что у больных пограничными опухолями и РЯ чаще выявляли значения ММП-2 в сыворотке кро-

ви более 303 нг/мл (то есть были выше, чем в контроле), соответственно 3 из 7/42,9% ($p=0,006$) и 10 из 38/15,8% ($p=0,07$), по сравнению с группой больных доброкачественными новообразованиями яичников (0%).

Кроме того, значения ММП-2 в сыворотке крови больных новообразованиями яичников были ниже таковых в контроле (менее 161 нг/мл): у 22,6% больных РЯ, у 5,3% больных доброкачественными новообразованиями и у 0% больных пограничными опухолями яичников.

Эти данные показывают, что значения ММП-2, отличные от нормы, достоверно чаще выявляли у больных РЯ (38,7%) и пограничными опухолями (42,9%), реже при доброкачественных новообразованиях яичников (5,3%) ($p=0,02$).

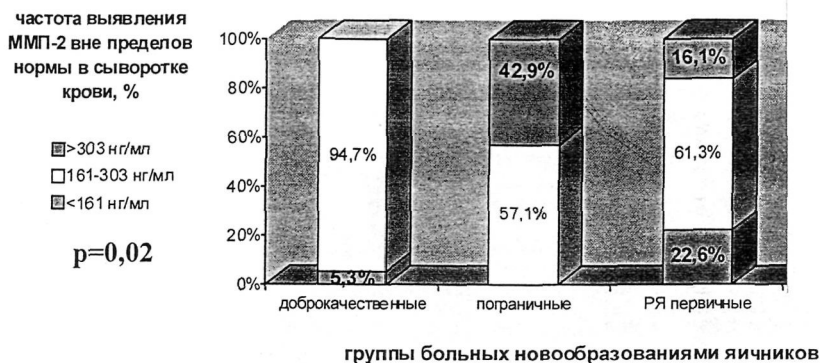


Рис. 1. Частота выявления уровней ММП-2 выше пределов нормы в сыворотке крови больных новообразованиями яичников разных групп.

Содержание ММП-2 в опухоли больных новообразованиями яичников колебалось в широких пределах от 2,9 до 115 нг/мг белка и было наибольшим у больных доброкачественными новообразованиями яичников и наименьшим у больных РЯ (медианы соответственно 28,4 и 15,5 нг/мг белка; $p=0,06$ - тенденция к различию).

Определили коэффициент соотношения содержания ММП-2 в сыворотке крови к ММП-2 в опухоли. Так, у 18 больных доброкачественными новообразованиями яичников медиана соотношения равнялась 7,9, у 7 больных пограничными новообразованиями яичников была выше и составила 13,2, а у 28 первичных больных РЯ медиана соотношения равнялась 11,3. Различия выше указанного коэффициента

во всех группах больных были статистически недостоверными.

В группе больных РЯ установлена прямая достоверная корреляционная зависимость между содержанием ММП-2 в сыворотке крови и опухоли ($r_s=0,43$; $p=0,01$). Тогда как в группе больных доброкачественными и пограничными новообразованиями яичников этой зависимости не выявлено ($r_s=-0,31$; $p=0,13$). Следовательно, у больных РЯ высоким значениям ММП-2 в опухоли чаще соответствовали высокие показатели фермента в сыворотке крови.

Подводя итоги проведенному анализу содержания ММП-2 в сыворотке крови и опухоли больных новообразованиями яичников разных групп, отметим, что медиана содержания ММП-2 в сыворотке крови больных РЯ была наименьшей, а в контроле – наибольшей. При этом, медиана содержания ММП-2 в опухоли больных доброкачественными новообразованиями яичников была наибольшей, а при РЯ - наименьшей (тенденция к различию). Вместе с тем, только в группе больных РЯ установлена прямая достоверная корреляционная связь между содержанием ММП-2 в опухоли и сыворотке крови ($r_s=0,43$; $p=0,01$).

Таблица 4.

Содержание ММП-2 в сыворотке крови больных новообразованиями яичников с учетом максимального размера опухоли

Размер, см	Доброкачественные		Пограничные		Злокачественные	
		ММП-2, нг/мл (медиана- квартили)	n	ММП-2, нг/мл (медиана- квартили)	N	ММП-2, нг/мл (медиана- квартили)
<5	7	229 (190-245)	2	248 (182-313)	4	197 (164-212)
5-9	6	241 (208-254)	1	223*	4	143 (105-155) ¹
≥10	4	212 (186-238)	4	300 (217-420)	6	209 (172-235)
Двустороннее	2	146 (102-189)	-	-	24	232 (192-270) ²

Примечание: *абсолютное значение; $p_{1,2}=0,01$.

Содержание ММП-2 как в сыворотке крови, так и в опухоли не было связано значимо с возрастом больных новообразованиями яичников всех обследованных групп, а также с наличием сопутствующих соматических заболеваний. Вместе с тем, отмечена тенденция к повышению ММП-2 в сыворотке крови с увеличением размера первичной опухоли у больных доброкачественными и пограничными новообразованиями яичников, а в группе больных с двусторонним РЯ отмечено достоверно высокие уровни ММП-2 в сыворотке крови (табл. 4). При этом выявленная

корреляционная зависимость между содержанием ММП-2 в сыворотке крови и опухоли усиливалась у больных РЯ с двусторонним опухолевым поражением до значения ($r_s=0,65$; $p=0,001$).

Анализ уровней ММП-2 в сыворотке крови и опухоли больных доброкачественными и пограничными новообразованиями яичников с учетом гистологического строения опухоли не выявил достоверных различий в выше указанном маркере. Вместе с тем отмечены высокие значения ММП-2 в опухоли больных серозным РЯ (табл. 5).

Таблица 5.

Содержание ММП-2 в сыворотке крови и опухоли больных РЯ с учетом его гистологического варианта строения

Гистологический вариант строения РЯ	ММП-2 в сыворотке крови, нг/мл		ММП-2 в опухоли, нг/мг белка	
	n	Медиана, квартили	n	Медиана, квартили
Серозный	25	232 (191-270)	23	22,7 (13,6-45,8)
Эндометриоидный	7	185 (164-248)	3	6,3 (5,0-7,9)
Муцинозный	2	198*	1	11,9*
Смешанный рак	3	203* (126-204)	1	37,0*
Светлоклеточный рак	1	212*	-	-

Примечание: *абсолютное значение; все различия недостоверны.

При этом, в сыворотке крови 40% больных серозной аденокарциномой яичников выявлены значения ММП-2, отличные от таковых в контроле.

Отметим, что прямая корреляционная зависимость между ММП-2 в сыворотке крови и опухоли больных РЯ была характерна только для поздних IIIb-IV стадий ($r=0,68$; $p=0,001$). Тогда как у больных I-II стадий РЯ зависимость была недостоверной, как и у больных доброкачественными и пограничными новообразованиями яичников.

Наибольшее содержание ММП-2 обнаружено при IV стадии РЯ как в сыворотке крови (медиана 285 нг/мл), так и в опухоли первичных больных (медиана 22,9 нг/мг белка) (табл. 6).

Следует указать, что уровни ММП-2 в сыворотке крови и опухоли больных

РЯ были наиболее низкими при высокодифференцированных новообразованиях.

Таблица 6.

Содержание ММП-2 в сыворотке крови и опухоли больных РЯ
с учетом стадии заболевания по FIGO

Стадия РЯ	ММП-2 в сыворотке крови, нг/мл		ММП-2 в опухоли, нг/мг белка	
	N	Медиана, квартили	n	Медиана, квартили
¹ Ia	4	192 (168-213)	2	11,3 (7,9-14,6)
² Ic	7	155 (143-202)	7	11,9 (6,3-26,6)
³ IIa	2	204 (203-204)	1	37,0
⁴ IIb	1	160*	1	15,4*
⁵ IIIa	1	269*	-	-
⁶ IIIb	2	281 (195-366)	2	18,7 (9,0-28,4)
⁷ IIIc	15	235 (187-270)	12	17,9 (12,1-50,1)
⁸ IV	6	285 (211-359)	3	22,9 (13,4-76,9)

Примечание: *абсолютное значение; в сыворотке крови $p_{2vs7,8}=0,036$.

Наименьшие значения ММП-2 в сыворотке крови установлены у больных РЯ без асцита и достоверно более высокие при наличии такового (медианы 197 и 256 нг/мл соответственно; $p=0,006$). Также заметно выше было содержание ММП-2 в опухоли больных РЯ с асцитом (медианы 23,7 и 15,0 нг/мг белка соответственно).

Установлена тенденция к более высоким значениям ММП-2 в сыворотке крови больных РЯ при выявлении опухолевых клеток в асцитической жидкости или в смывах из брюшной полости ($p=0,05$ Mann-Whitney U test). При этом, корреляционная зависимость между ММП-2 в опухоли и сыворотке крови усиливалась у больных РЯ с выявленными опухолевыми клетками в смывах из брюшной полости до значения ($r_s=0,6$; $p=0,004$).

На рисунке 2 представлена частота выявления значений ММП-2 в опухоли больных РЯ, лежащих вне пределов условной нормы при различных признаках процесса. При неблагоприятных факторах чаще выявляли высокие значения ММП-2.

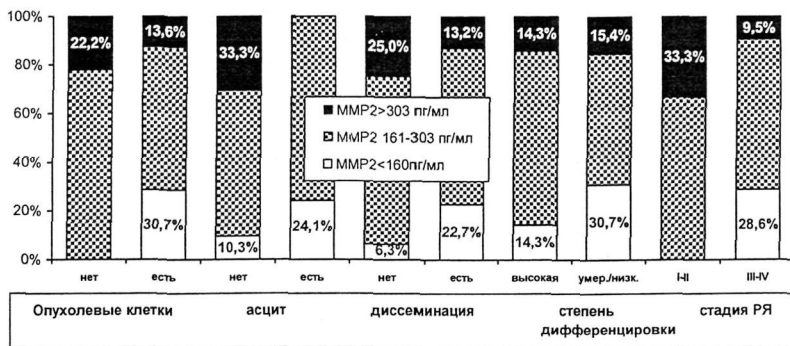


Рис. 2. Частота выявления ММП-2 в сыворотке крови больных РЯ вне пределов условной нормы при различных клинических признаках.

У больных новообразованиями яичников всех групп значения СА-125, определенные в сыворотке крови, не были связаны со значениями ММП-2 в сыворотке крови и опухоли корреляционной зависимостью. Однако, несмотря на то, что дисперсионный анализ не обнаружил связи СА-125 с содержанием ММП-2 в сыворотке крови и опухоли, в то же время, одновременное определение СА-125 и ММП-2 в сыворотке крови больных новообразованиями яичников разных групп выявило определенные закономерности. Так, для больных РЯ поздних III-IV стадий и пограничными новообразованиями яичников могут быть характерны при относительно невысоких значениях СА-125 в сыворотке крови (<200 Ед/мл) высокие уровни ММП-2 (>303 нг/мл). Очень высокие показатели СА-125 в сыворотке крови независимо от уровня ММП-2 указывают на наличие РЯ (чаще у пациенток с распространенным процессом).

Связь показателей ММП-2 с уровнями VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2 в сыворотке крови и опухоли больных новообразованием яичников.

Проведен анализ содержания VEGF и его рецепторов 1 и 2 типа в сыворотке крови и опухоли больных новообразованиями яичников разных групп (табл. 7). Содержание VEGF в сыворотке крови больных РЯ было недостоверно, а в ткани опухоли достоверно выше, чем у больных доброкачественными новообразованиями яичников. Содержание рецепторов (VEGFR-1, VEGFR-2) в указанных группах статистически не различалось. При этом, уровни VEGF в сыворотке крови в группе

контроля были достоверно ниже, чем у больных РЯ ($p < 0,001$), и достоверно ниже, чем у больных доброкачественными новообразованиями яичников ($p < 0,01$).

Таблица 7.

Содержание VEGF и его рецепторов в сыворотке крови и опухоли больных новообразованиями яичников разных групп

Показатели	Новообразования яичников (группы)					
	Доброкачественные		Пограничные		Злокачественные	
	n	Медиана, квартили, пределы	N	Медиана, квартили, пределы	n	Медиана, квартили, пределы
В сыворотке крови						
VEGF* (пг/мл)	19	289 168-465 68-872	7	167 135-273 129-365	38	428 252-564 16-1654
VEGFR-1 (нг/мл)	17	86 80,2-108 60,4-118	7	99,7 76,2-113 69,1-153	36	92 76,8-103 44,3-142
VEGFR-2 (нг/мл)	19	10,2 5,8-11,3 0-16,2	7	12,3 12-13,3 5,5-15,5	38	9,5 8,2-10,9 6,5-15,8
В ткани опухоли						
VEGF** (пг/мг белка)	18	2,3 0-31 0-646	7	208 140-780 23-2459	34	350 9,9-521 0-1422
VEGFR-1 (нг/мг белка)	17	751 549-864 248-1260	7	707 254-805 121-951	34	686 527-796 301-1340
VEGFR-2 (пг/мг белка)	18	171 98-254 39,9-735	7	184 74,3-234 0-413	35	125 105-188 4,1-395

Примечание: * $p_{1-3} = 0,06$ Median test; ** $p_{1-2,3} = 0,004$ Kruskal-Wallis test.

Показатели VEGFR-1 в сыворотке крови женщин группы контроля составили по медиане 97,1 нг/мл, (нижняя и верхняя квартили равнялись соответственно 69,1 и 118 нг/мл, пределы колебания составили 50-130 нг/мл) и были достоверно выше по сравнению с группой больных РЯ ($p < 0,01$).

Концентрация VEGFR-2 в сыворотке крови женщин группы контроля не различалась достоверно по сравнению с группами больных новообразованиями яичников. Не выявлено корреляционной зависимости между ММП-2 и VEGF, определенными в сыворотке крови больных новообразованиями яичников разных групп.

В то же время, у больных новообразованиями яичников всех групп обнаружена обратная корреляционная зависимость между содержанием ММП-2 и VEGF, определенными в опухоли ($r_s = -0,44$; $p = 0,0001$). Эти данные показывают, что в опухоли больных новообразованиями яичников независимо от характера новообразования при высоких значениях одного из выше указанных маркеров чаще выявляли низкие значения другого. Выявленная закономерность отсутствовала у больных новообразованиями яичников всех групп с концентрациями сывороточного СА-125 менее 35 Ед/мл ($r = 0,1$), была слабой и недостоверной у больных со значениями СА-125 от 35 до 100 Ед/мл ($r_s = -0,27$; $p = 0,4$) и была наиболее выраженной у больных с повышенными значениями СА-125 (от 100 Ед/мл и более) ($r_s = -0,59$; $p = 0,001$). Стало быть, обратная связь между содержанием ММП-2 и VEGF в опухоли усиливалась по мере увеличения концентрации СА-125 в сыворотке крови больных новообразованиями яичников.

У больных доброкачественными и пограничными новообразованиями яичников не выявлено линейной зависимости между показателями ММП-2 и VEGFR-1, определенными в сыворотке крови ($r = 0$). В то же время в группе больных РЯ обнаружена достоверная прямая корреляционная зависимость между этими показателями ($r_s = 0,4$; $p = 0,017$). Зависимость была выражена линейной у больных с I стадией РЯ ($r_s = 0,88$; $p = 0,0016$), но отсутствовала у пациенток с IV стадией ($r = -0,2$; $p = 0,8$). Зависимость между ММП-2 и VEGFR-1 также была более тесной у больных без асцита, без метастазов в большом сальнике, при отсутствии опухолевых клеток в смывах из брюшной полости, что вероятно, указывает на компенсаторный характер данной зависимости.

Не выявлено корреляционной зависимости между содержанием ММП-2 и VEGFR-2, определенными в сыворотке крови и опухоли больных новообразованиями яичников всех групп.

Диагностическая ценность VEGF и коэффициентов соотношений VEGF/VEGFR-1, VEGF/VEGFR-2, определенных в сыворотке крови больных новообразованиями яичников, оказалась недостаточной (точность распознавания менее 70%). Отметим, что частота выявления сывороточного маркера СА-125 выше нормы (более 35 Ед/мл) составила 65,0% у 20 больных доброкачественными, 71,4% - у 7 больных пограничными и 89,2% - у 37 больных РЯ ($p = 0,08$). Таким образом, ди-

агностическая ценность одного СА-125 при новообразованиях яичников также оказалась недостаточной.

Эти данные указывают, что все рассматриваемые показатели (СА-125, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2), по отдельности не могут однозначно характеризовать какую-либо группу больных новообразований яичников. Тем не менее, использование 3-х маркеров, определенных в сыворотке крови до лечения (VEGF, VEGFR-1, ММП-2) повышает в дополнение к СА-125 вероятность выявления злокачественного характера новообразования яичников. Так, благоприятные значения СА-125 менее 100 Ед/мл, VEGF/VEGFR-1 менее 5 и ММП-2 в пределах нормы (160-303 нг/мл) выявлены у 73,3% (11 из 15) больных доброкачественными, у 28,6% (2 из 7) пограничными и только у 16,1% (5 из 31) больных РЯ ($p=0,003$).

Полученные данные позволяют разработать решающее правило для определения злокачественного характера выявленного новообразования яичника, а определение маркеров в сыворотке крови можно проводить в 2 этапа: обязательный этап - определение СА-125 и VEGF/VEGFR-1, а при их благоприятных уровнях – дополнительное определение и ММП-2.

Подводя итоги анализа связи ММП-2 с VEGF и его рецепторами VEGFR-1 и VEGFR-2, отметим: у больных новообразованиями яичников всех групп обнаружена обратная корреляционная зависимость между содержанием ММП-2 и VEGF, определенными в ткани опухоли ($r_s=-0,44$; $p=0,0001$); у больных новообразованиями яичников всех групп с повышенными уровнями СА-125 в сыворотке крови (более 100 Ед/мл) зависимость между ММП-2 и VEGF в ткани опухоли усиливалась, но отсутствовала у больных с концентрациями СА-125 в пределах нормы; для больных раком яичников с I-II стадиями характерна прямая корреляционная зависимость между содержанием ММП-2 и VEGFR-1 ($r_s=0,88$; $p=0,0016$) в сыворотке крови; диагностическая ценность определения СА-125 в сыворотке крови больных злокачественными и доброкачественными новообразованиями яичников недостаточна (чувствительность - 89,2%; специфичность - 35,0%); совместное определение СА-125, VEGF и VEGFR-1, а также ММП-2 в сыворотке крови больных новообразованиями яичников позволяют дифференцировать злокачественный характер новообразования в яичнике от доброкачественного (чувствительность - 83,9%, специфичность - 73,6%).

Выводы

1. Уровни ММП-2 в сыворотке крови практически здоровых женщин, больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников не различалось, их медианы составили соответственно 256, 229, 244 и 208 нг/мл. Достоверно высокие уровни сывороточного ММП-2 обнаружены при двустороннем раке яичников.

2. Показатели ММП-2 в опухолях больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников не различались. При этом в группе больных раком яичников установлена прямая достоверная корреляционная зависимость между содержанием ММП-2 в сыворотке крови и опухоли ($r_s=0,43$; $p=0,01$), у больных доброкачественными и пограничными новообразованиями яичников этой зависимости не выявлено.

3. Содержание ММП-2 в сыворотке крови и опухоли не зависело от гистологического строения пограничных и доброкачественных новообразований яичников и было наиболее высоким при серозном раке яичников с умеренной и низкой степенью дифференцировки опухоли, при III-IV стадиях заболевания и наличии асцита. Показатели ММП-2 в сыворотке крови больных доброкачественными новообразованиями яичников не отражали основные клинико-морфологические характеристики заболевания: возраст, состояние репродуктивной функции, гистологическое строение и размер опухоли.

4. У больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников уровни СА-125 и ММП-2 в сыворотке крови не были связаны корреляционной зависимостью, а высокие концентрации СА-125 независимо от значений ММП-2 указывали на наличие рака яичников.

5. Содержание VEGF в сыворотке крови практически здоровых женщин было достоверно ниже, чем в общей группе больных новообразованиями яичников (медианы соответственно 201 и 318 пг/мл; $p=0,001$), при этом более высокие медианы VEGF выявлены в сыворотке крови больных раком, чем доброкачественными и пограничными опухолями яичников (соответственно 428, 289 и 167 пг/мл). У больных новообразованиями яичников всех групп обнаружена обратная корреляционная зависимость между содержанием VEGF и ММП-2 в опухоли ($r_s=-0,44$;

$p=0,0001$), которая усиливалась по мере увеличения концентрации сывороточного СА-125.

6. Не установлено достоверных различий в содержании VEGFR-1 и VEGFR-2 в сыворотке крови и опухоли больных раком, пограничными и доброкачественными опухолями яичников. Однако медиана концентрации VEGFR-1 в сыворотке крови практически здоровых женщин была достоверно выше, чем у больных раком яичников, при этом у последних обнаружена достоверная прямая корреляционная зависимость между ММП-2 и VEGFR-1 в сыворотке крови ($r_s=0,4$; $p=0,017$), которая отсутствовала у больных доброкачественными и пограничными опухолями.

7. Значения СА-125 менее 100 Ед/мл, соотношение VEGF/VEGFR-1 менее 5 и уровни ММП-2 в пределах нормы (160-303 нг/мл) выявлены у 73,3% больных доброкачественными, у 28,6% пограничными и только у 16,1% больных раком яичников ($p=0,003$), что может быть использовано для выявления пациенток с высоким риском злокачественного характера новообразования в яичниках (чувствительность теста - 83,9%, специфичность - 73,6%).

Печатные работы

1. Дигаева М.А., Высоцкий М.М., Бахоева К.А., Крюк Ю.В., Аббасова С.Г., Манухин И.Б., Тулеуова А.А., Липкин В.М. Сравнительный анализ уровней растворимого Fas у больных раком и доброкачественными новообразованиями яичников // В материалах XVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (Москва, 6-10 апреля 2009г.).-2009.-с.86.

2. Герштейн Е.С., Левкина Е.С., Дигаева М.А., Крюк Ю.В., Кушлинский Д.Н. Фактор роста эндотелия сосудов и его рецепторы 1 и 2 типа в опухолях и сыворотке крови больных новообразованиями яичников / Труды научно-практической конференции «Лабораторная медицина в свете Концепции развития здравоохранения России до 2020 года» (Москва, 28-30 сентября 2009г.) // М.-«Лабора».-2009.-с.31-32.

3. Дигаева М.А., Бахоева К.А., Крюк Ю.В., Высоцкий М.М., Аббасова С.Г., Кузнецов В.В. Фактор роста эндотелия сосудов и растворимый Fas в сыворотке крови больных новообразованиями яичников // В материалах Международной конференции «Молекулярная медицина и биобезопасность» (Москва 10-11 ноября 2009г.).-М.-ММА им. Сеченова И.М.-2009.-с.81-82.

4. Высоцкий М.М., Дигаева М.А., Бахоева К.А., Крюк Ю.В., Кушлинский Д.Н., Аббасова С.Г., Кузнецов В.В., Лактионов К.П. Маркеры ангиогенеза, Fas-зависимого апоптоза и лептин в сыворотке крови больных раком и доброкачественными новообразованиями яичников // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.-2009.-№6.-с.25-29.

5. Высоцкий М.М., Дигаева М.А., Кушлинский Д.Н., Аббасова С.Г., Лактионов К.П., Ермилова В.Д., Бахоева К.А., Крюк Ю.В., Манухин И.Б. sFas, лептин и VEGF

в сыворотке крови больных раком и доброкачественными новообразованиями яичников // Бюлл. Экспер. Биол. Мед.-2009.-том 148, №11.-с.564-568.

6. Высоцкий М.М., Дигаева М.А., Крюк Ю.В., Шарашинидзе О.А., Бахоева К.А., Кушлинский Д.Н., Галдава Д.Г., Манухин И.Б., Адамян Л.В. Сывороточные маркеры у больных новообразованиями яичников // В материалах XVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (Москва, 12-16 апреля 2010г.)-М.-2010.-с.70.

7. Высоцкий М.М., Дигаева М.А., Терешкина И.В., Крюк Ю.В., Кушлинский Д.Н., Лактионов К.П., Кузнецов В.В., Манухин И.Б. Сывороточные молекулярно-биологические маркеры у больных новообразованиями яичников // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.-2010.-№4.-с.20-26.

Аннотация

Проведено сравнительное иммуноферментное определение содержания биохимических маркеров (ММП-2, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2, СА-125) в сыворотке крови и опухоли больных раком, пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников. Уровни ММП-2 в опухоли и сыворотке крови больных раком, пограничными, доброкачественными новообразованиями яичников и у здоровых женщин достоверно не различалось. Концентрация ММП-2 в сыворотке крови больных доброкачественными новообразованиями яичников не отражала основные клинико-морфологические факторы заболевания. Выявлены достоверно высокие уровни ММП-2 в сыворотке крови больных с двусторонним раком яичников. Наиболее высокие показатели ММП-2 обнаружены в сыворотке крови и опухоли при серозном раке яичников, умеренной и низкой степени дифференцировки опухоли, III-IV стадиях и при наличии асцита. Содержание VEGF в сыворотке крови здоровых женщин достоверно ниже, чем в общей группе больных новообразованиях яичников, а более высокие медианы VEGF выявлены у больных раком, чем доброкачественными и пограничными опухолями яичников. Не установлено достоверных различий в содержании VEGFR-1 и VEGFR-2 в сыворотке крови и опухоли больных новообразованиями яичников, однако медиана концентрации VEGFR-1 в сыворотке крови здоровых женщин достоверно выше, чем у больных раком яичников. Значения СА-125 менее 100 Ед/мл, соотношение VEGF/VEGFR-1 менее 5 и уровни ММП-2 в пределах 160-303 нг/мл выявлены у 73,3% больных доброкачественными, у 28,6% пограничными и у 16,1% больных раком яичников, что может быть использовано для выявления пациенток с высоким риском злокачественного характера новообразования в яичниках (чувствительность теста - 83,9%; специфичность - 73,6%).

Summary

Comparative immunoenzymatic determination of biochemical markers (MMP-2, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2, CA-125) was performed in blood serum and tumors of patients with malignant, borderline and benign ovarian neoplasms. No differences were found between MMP-2 levels in the tumors and sera of cancer, benign or borderline tumor patients, and in control group. MMP-2 concentration in the serum of benign ovarian tumor patients was not associated with the main clinico-pathologic features of the disease. Significant increase of MMP-2 levels was revealed in the sera of patients with bilateral ovarian cancer. The highest MMP-2 values were found in blood serum and tumors in serous cancer, moderate and low tumor differentiation grade, stage III-IV disease, and in patients with ascites. VEGF concentration in the serum of healthy women was significantly lower than in the combined group of ovarian neoplasms patients, and higher median VEGF level was revealed in ovarian cancer than in benign and borderline tumor patients. No significant differences were found for serum and tumor VEGFR-1 and VEGFR-2 between patients with various ovarian neoplasms, but median VEGFR-1 concentration was significantly higher in the serum of healthy women as compared to ovarian cancer patients. CA-125 levels below 100 U/ml, VEGF/VEGFR-1 ratio <5, and MMP-2 levels in the range of 160-303 ng/ml were found in 73.3% of benign tumor patients, 28.6% of borderline tumor and 16.1% of ovarian cancer patients. This observation may be applied for discrimination of patients with high risk of malignant character of ovarian lesion (sensitivity - 83.9%; specificity - 73.6%).

Подписано в печать 16.02.11 Формат 60×84/16
Бумага офисная «SvetoCору». Тираж 100 экз. Заказ № 193

Отпечатано на УМТ РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН
115478, Москва, Каширское ш., 24