

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ РОСТА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

Кит О.И.¹, Вереникина Е.В.¹, Миндарь М.В.¹, Меньшенина А.П.¹, Адамян М.Л.¹,
Кечерюкова М.М.¹, Арджа А.Ю.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону,
e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Цель исследования – изучение влияния факторов роста: VEGF-A, sVEGF-R1, EGF, sEGFR и TNF- α , FGF21 на выживаемость пациенток, больных раком яичников (РЯ), и поиск независимого предиктора летального исхода. Для исследования использовали фрагменты опухоли и сыворотку крови от 180 пациенток, больных РЯ, поступивших на оперативное лечение в отделение онкогинекологии «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Исследование выживаемости пациенток с РЯ проводилось в течение 8 лет. Уровень факторов роста определяли с помощью иммуноферментного анализа. Анализировали данные с использованием β -стандартизированного показателя регрессии, модели пропорциональных интенсивностей Кокса, критерия Вальда, сопоставления наблюдаемого значения статистики Вальда с критическим уровнем β -стандартизированного показателя регрессии. В результате работы было определено, что мгновенный риск смерти был наибольшим в 1-й и 2-й интервалы наблюдения, через 7 лет наблюдения медиана дожития прогрессивно снижалась. С помощью статистического анализа определили, что среди факторов роста ткани яичников предикторную роль играли три показателя: VEGF-A, EGF и TNF- α , однако только концентрация VEGF-A в ткани яичников являлась независимым предиктором летального исхода ($p=0,003$). Далее анализировали полученные данные о концентрации VEGF-A, sVEGF-R1 и FGF21 в сыворотке крови и определили, что значимой для прогнозирования наступления летального исхода была концентрация фактора VEGF-A ($p=0,001$). Концентрация VEGF-A и в ткани яичников, и в сыворотке крови являлась независимым предиктором летального исхода, в то время как факторы роста sVEGF-R1, EGF, sEGFR и TNF- α не коррелировали с продолжительностью жизни пациенток с эпителиальным раком яичников.

Ключевые слова: рак яичников, выживаемость, факторы роста, VEGF-A, EGF, TNF- α .

INFLUENCE OF GROWTH FACTORS ON SURVIVAL OF PATIENTS WITH OVARIAN CANCER

Kit O.I.¹, Verenikina E.V.¹, Mindar M.V.¹, Menshenina A.P.¹, Adamyan M.L.¹,
Kecheryukova M.M.¹, Ardzha A.Y.¹

¹ Federal State Budgetary Institution «National Medical Research Centre for Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Aim of the study – revealing the effect of VEGF-A, sVEGF-R1, EGF, sEGFR and TNF- α , FGF21 growth factors on the survival of patients with ovarian cancer and a search for an independent predictor of mortality. We studied tumor samples and the blood serum of 180 ovarian cancer patients referred for treatment to the Department of Oncogynecology of National Medical Research Centre for Oncology. The survival of ovarian cancer patients was studied during 8 years. Levels of growth factors were determined by ELISA. The data were analyzed using β -standardized regression coefficient, Cox's proportional intensity model, Wald test, and comparison of the observed value of Wald statistics with the critical level of β -standardized regression index. The study showed that the immediate mortality risk was greatest in the 1st and 2nd observation intervals; after 7 years of observation, the median survival progressively decreased. Statistical analysis determined that three indicators among the growth factors in ovarian tissues played a predictive role: VEGF-A, EGF and TNF- α , however, only VEGF-A levels in ovarian tissue were an independent predictor of mortality ($p=0.003$). An analysis of the obtained data on the blood serum levels of VEGF-A, sVEGF-R1 and FGF21 showed that the concentration of VEGF-A was significant for predicting mortality ($p=0.001$). Levels of VEGF-A both in ovarian tissues and in the blood serum was an independent predictor of mortality. The sVEGF-R1, EGF, sEGFR and TNF- α growth factors did not have a significant effect on the survival of patients with ovarian cancer.

Keywords: ovarian cancer, survival, growth factors, VEGF-A, EGF, TNF- α .

Рак яичников (РЯ) занимает четвертую позицию в структуре онкологической заболеваемости женского населения в возрастной категории от 40 до 54 лет и пятую позицию

среди женщин от 55 до 69 лет после рака молочной железы, тела и шейки матки [1]. Эпителиальный рак яичников является одним из наиболее агрессивных злокачественных новообразований и характеризуется бессимптомным течением и поздней выявляемостью, ввиду чего 64% пациенток на момент постановки диагноза имеют III–IV стадию заболевания [2]. Кроме того, 23,7% летальных случаев регистрируется на первом году наблюдения после постановки диагноза [3].

Согласно современным данным о заболеваемости раком яичников, в мире регистрируется 9,1 случая на 100 тыс. женского населения. На 2016 г., согласно данным Росстата, средний показатель заболеваемости РЯ по России составил 17,8 случая на 100 тыс. женского населения [4]. Также ввиду отсутствия эффективных методов ранней диагностики отмечается высокий уровень смертности пациенток с данным заболеванием, что отчасти объясняется неспецифичностью симптомов, проявляющихся только при прогрессировании злокачественного новообразования [5].

Рост и прогрессирование злокачественных новообразований, в том числе и рака яичников, связаны с развитием патологической сосудистой сети. Прогрессирование неоангиогенеза прямо пропорционально увеличению активности фактора роста эндотелия сосудов VEGF-A [6, 7]. Данный белок участвует в пролиферации и миграции эндотелиальных клеток, кроме того, он способствует инвазии и метастазированию опухолей. Стимулируют синтез VEGF-A и способствуют построению сосудистого русла эпидермальный фактор роста (EGF) и фактор роста фибробластов (FGF21) [8, 9]. Кроме того, при развитии рака яичников отмечается повышение концентрации фактора некроза опухоли- α (TNF- α) [10]. Все эти белки оказывают непосредственное влияние на развитие РЯ, исходя из чего является актуальным изучение влияния этих факторов на выживаемость пациенток и риск наступления летального исхода.

Цель исследования – изучение влияния факторов роста: VEGF-A, sVEGF-R1, EGF, sEGFR и TNF- α , FGF21 на выживаемость пациенток с РЯ и поиск независимого предиктора летального исхода.

Материалы и методы исследования

Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Образцы тканей для исследования были получены от 180 пациенток с РЯ, поступивших на оперативное лечение в отделение онкогинекологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Средний возраст пациенток, больных раком яичников, участвующих в исследовании, составил 50,92 года. Распределение больных по возрасту представлено в таблице 1.

Распределение больных исследуемых групп по возрасту

Возраст, лет	n=180	
	Абс. ч.	%
<20	7	3,5
20–30	13	7,0
39–40	20	11,9
40–50	36	20,1
50–60	54	30,0
60–70	37	20,6
70–80	12	6,6
>80	1	0,3

Наблюдение за пациентками проводилось в течение 8 лет, на протяжении которых оценивали степень выживаемости больных. Для включения в исследование обязательным условием являлось добровольное информированное согласие всех больных. Для постановки окончательного диагноза проводили гистологический анализ.

Определение уровня ростовых факторов VEGF-A, EGF, TNF- α , FGF21 и их рецепторов sVEGF-R1 и sEGFR в опухолевой ткани и сыворотке крови пациенток с РЯ проводили при помощи иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных тест-систем: VEGF-A, sVEGF-R1 (BenderMedSystem, Австрия); EGF (Biosource, США), TNF- α (BenderMedSystem, Австрия) и sEGFR (R&DSystem, США).

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием пакетов программ Microsoft Excel, STATISTICA 10. Данные представлены в виде средних с учетом стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Для оценки полученных данных использовали: β -стандартизированный показатель регрессии – показатель, полученный в результате регрессионного анализа, где базовые данные были стандартизированы, так что отклонения от зависимых и независимых переменных равны 1. Для оценки условного риска заболевания при заданных значениях исходных признаков применяли модель пропорциональных интенсивностей Кокса, влияние изучаемых факторов считали значимым при $p \leq 0,05$. Также использовали критерий Вальда, являющийся одним из критериев принятия решений в условиях неопределенности. По критерию Вальда оптимальной принимается та стратегия, которая в наихудших условиях гарантирует максимальный выигрыш. Данный критерий ориентирует статистику на самые неблагоприятные условия. Проводили сопоставление наблюдаемого значения статистики Вальда с критическим уровнем β -стандартизированного

показателя регрессии, что позволило оценить силу влияния факторов роста на выживаемость. Чем больше значение β -коэффициента по модулю, тем выше сила влияния. Знак коэффициента регрессии отражает направленность связи. Последним из применяемых статистических методов был расчет отношения шансов, являющийся одним из основных способов описать в численном выражении то, насколько отсутствие или наличие определенного исхода связано с присутствием или отсутствием определенного фактора в конкретной статистической группе.

Результаты исследования и их обсуждение

При оценке выживаемости пациенток, больных раком яичников, было определено, что мгновенный риск смерти был наибольшим в 1-й (0,128±0,014) и 2-й интервалы (0,137±0,015) наблюдения. Если в начале наблюдения (0–0,7 года) медиана дожития составляла 7,8±0,012 года, то через 7 лет прогрессивно снижалась и составила 0,712±0,014 года (табл. 2).

Таблица 2

Показатели мгновенного риска смерти и медианы дожития больных раком яичников

№ инт.	Интервал, лет	Мгновенный риск смерти	Ст. ошибка риска	Медиана дожития, лет	Ст. ошибка медианы дожития
1	0–0,7	0,128	0,014	7,833	0,012
2	0,7–1,4	0,137	0,015	7,121	0,013
3	1,4–2,1	0,099	0,014	6,409	0,011
4	2,1–2,8	0,113	0,016	5,697	0,012
5	2,8–3,6	0,085	0,016	4,985	0,011
6	3,6–4,3	0,092	0,018	4,273	0,012
7	4,3–5,0	0,072	0,019	3,561	0,011
8	5,0–5,7	0,084	0,023	2,848	0,013
9	5,7–6,4	0,066	0,025	2,136	0,013
10	6,4–7,1	0,008	0,011	1,424	0,006
11	7,1–7,8	0,019	0,027	0,712	0,014

В результате проведенного ИФА по определению уровня факторов роста VEGF-A, EGF, TNF- α и их рецепторов sVEGF-R1 и sEGFR в опухолевой ткани были получены данные, на основе которых была проведена оценка их влияния на выживаемость больных (табл. 3).

Таблица 3

Средние значения концентрации факторов роста в ткани опухоли больных раком яичников

Интервал, лет	Средние значения концентрации факторов роста				
	VEGF-A пг/мл	sVEGF-R1	EGF	sEGFR	TNF- α

		нг/мл	пг/мл	нг/мл	пг/мл
0–0,7	9310,3±483	37,9±3,5	211,3±18,5	148,5±16,9	283,3±12,9
0,7–1,4	8978,5±512	35,4±3,2	214,8±15,8	144,5±15,2	280,2±12,2
1,4–2,1	9114,7±337	33,7±4,1	220,6±17,7	140,3±12,3	279,3±11,5
2,1–2,8	7567,9±448	36,7±2,9	209±16,2	150,3±17,7	284,3±12,2
2,8–3,6	5538,4±310	25,1±2,2	156,7±14,2	135,4±12,4	232,0±10,0
3,6–4,3	5013,8±412	32,7±1,8	155,1±12,9	133,3±11,1	230,3±10,7
4,3–5,0	4978,8±502	26,4±2,8	160,3±15,8	130,2±10,8	234,1±11,0
5,0–5,7	4647,8±337	24,8±2,4	150,2±12,2	137,3±13,2	238,1±10,9
5,7–6,4	5145±371	23,5±2,3	152,8±13,3	128,9±11,1	245,5±11,1
6,4–7,1	2781±218	20,7±1,9	80,2±8,6	127,2±10,0	221,3±9,4
7,1–7,8	2289±331	17,7±2,7	84,3±8,1	125,3±10,2	201,2±9,9
Более 7,8	2104±201	18,2±2,1	81,2±7,9	123,3±9,9	214,4±8,1

С помощью модели пропорциональных интенсивностей Кокса определили, что среди факторов роста ткани яичников предикторную роль играли три показателя: VEGF-A, EGF и TNF- α , в то время как рецепторы sVEGF-R1 и sEGFR значимого влияния на выживаемость пациенток не оказывали (табл. 3). В недавних исследованиях было показано, что VEGF-A, EGF и TNF- α оказывают значительное влияние на прогрессирование злокачественных заболеваний, рост эндотелия сосудов, однако их роль в выживаемости пациентов была не отображена [6, 11, 12]. Нами было выявлено, что с увеличением концентрации VEGF-A, EGF и TNF- α в опухолевой ткани повышается вероятность наступления летального исхода и снижается процент выживаемости больных после специфического лечения в течение 8 лет наблюдения (табл. 4).

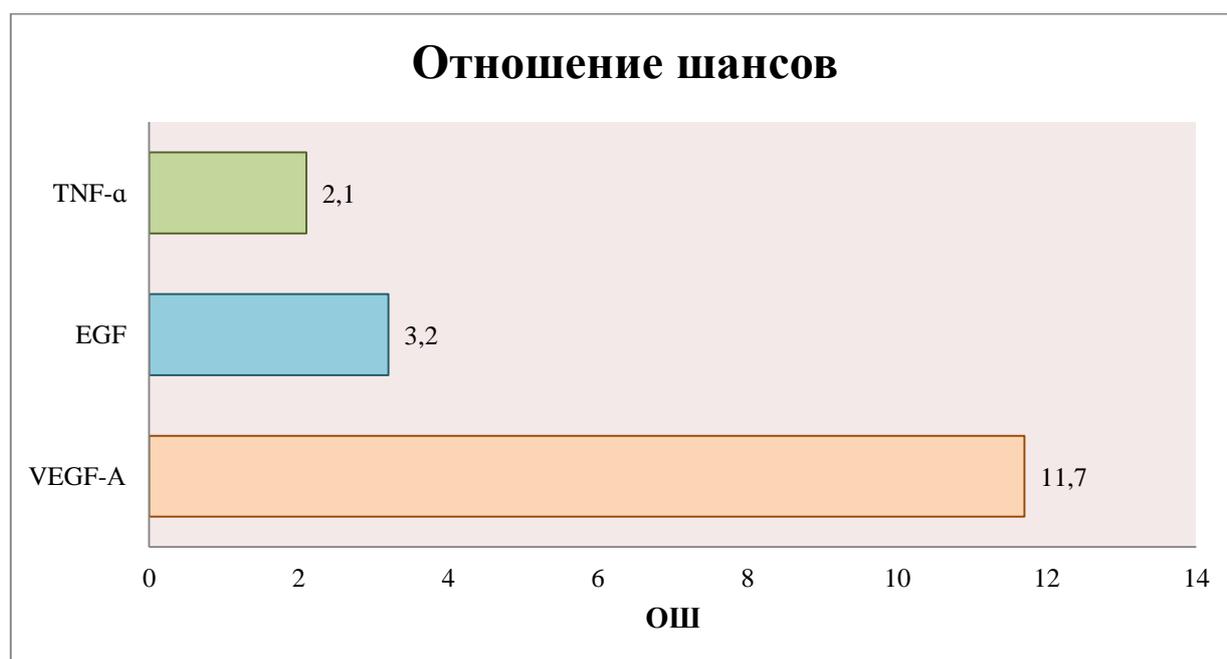
Таблица 4

Результаты оценки влияния факторов роста в опухолевой ткани на развитие летальных исходов у пациенток с РЯ

Факторы роста в опухолевой ткани	β -стандартизированный показатель регрессии, $M \pm m$	Доверительный интервал	Статистика Вальда	p
VEGF-A	9,57±0,24	3,26–13,28	93,2	0,0001
sVEGF-R1	1,85±0,04	0,82–2,76	3,0	0,07
EGF	5,24±0,11	3,46–7,21	8,4	0,002

sEGFR	-0,37±0,05	От -0,02 до -0,56	1,7	0,36
TNF- α	2,16±0,48	1,46–3,03	4,2	0,01

Исходя из проведенных расчетов отношений шансов определили, что риск наступления летального исхода у пациенток с РЯ при увеличении в ткани яичников количества VEGF-A повышался в 11,7 раза ($p=0,0001$), фактора EGF – в 3,2 раза ($p=0,002$) и фактора TNF- α – в 2,1 раза ($p=0,01$) (рис.).



Отношение шансов развития летальных исходов у пациенток с РЯ на основании данных о концентрации факторов роста TNF- α , EGF и VEGF-A

Использование модели пропорциональных интенсивностей Кокса расчет отношения шансов позволило установить, что только концентрация VEGF-A в ткани яичников являлась независимым предиктором летального исхода ($p=0,003$). Влияние двух других тканевых факторов роста – EGF ($p=0,13$) и TNF- α ($p=0,24$) – на продолжительность жизни пациенток РЯ было статистически не значимо.

Далее определяли содержание VEGF-A, sVEGF-R1 и FGF21 в сыворотке крови, средние значения полученных данных представлены в таблице 5. Исследование концентрации факторов роста в опухолевой ткани сопряжено со специфической пробоподготовкой. Анализ содержания данных белков в сыворотке крови неинвазивен и не связан с хирургическим этапом получения операционного материала. Учитывая, что исследуемые факторы находятся во всех транспортных средах организма, для нашей работы было важно оценить

концентрацию VEGF-A, sVEGF-R1 и FGF21 у больных РЯ на основе иммуноферментного анализа сыворотки крови.

Таблица 5

Средние значения концентрации факторов роста в сыворотке крови больных раком яичников

Интервал, лет	Средние значения концентрации факторов роста		
	VEGF-A пг/мл	sVEGF-R1 нг/мл	FGF21 пг/мл
0–0,7	1164,4±85,5	207,9±25,5	2,2±0,21
0,7–1,4	1112,2±90,3	205,4±24,2	2,1±0,35
1,4–2,1	1214,5±82,2	204,7±23,1	2,3±0,33
2,1–2,8	1012,9±83,3	206,7±23,5	2,1±0,21
2,8–3,6	689,9±58,8	195,7±19,8	1,8±0,16
3,6–4,3	707,8±55,1	192,1±20,2	1,7±0,15
4,3–5,0	665,5±49,9	186,4±18,8	1,8±0,14
5,0–5,7	789,8±38,9	185,8±17,4	1,8±0,18
5,7–6,4	712,2±42,3	181,5±17,3	1,7±0,16
6,4–7,1	454,2±31,8	179,7±15,9	1,5±0,13
7,1–7,8	498,4±23,1	175,7±13,2	1,4±0,12
Более 7,8	424,2±30,1	178,7±15,8	1,5±0,13

Согласно современным исследованиям, фактор роста эндотелия сосудов и его рецептор, а также фактор роста фибробластов, выделяемые из сыворотки крови пациентов, продемонстрировали прогностический потенциал при онкологических заболеваниях [13, 14]. Определяли β -стандартизированный коэффициент регрессии для ростовых факторов в сыворотке, значение критерия Вальда. Затем с использованием модели пропорциональных интенсивностей Кокса определили, что прогностически значимой для наступления летального исхода была концентрация фактора VEGF-A ($p=0,001$), p значение sVEGF-R1 составило 0,13, а FGF21 – 0,48 (табл. 6), что не является статистически значимым.

Таблица 6

Результаты оценки влияния факторов роста в сыворотке крови на развитие летальных исходов у пациенток с РЯ

Факторы роста в опухолевой ткани	β -стандартизированный показатель регрессии, $M \pm m$	Доверительный интервал	Статистика Вальда	p
VEGF-A	5,63±0,58	2,16–8,59	9,2	0,001

sVEGF-R1	1,12±0,09	0,75–1,96	3,8	0,13
FGF21	0,73±0,05	0,21–1,15	0,75	0,48

При расчете отношений шансов определили, что при повышении в сыворотке крови концентрации фактора VEGF-A до 1012,9±83,3 пг/мл и выше риск развития летальных исходов у пациенток с РЯ повышался в 6,3 раза (p=0,001) (рис. б) и был ниже в сравнении с тканевой концентрацией фактора.

Сравнительный анализ прогностической значимости изменения концентрации фактора VEGF-A в сыворотке крови и опухолевой ткани в отношении оценки риска наступления летального исхода определил опухолевую ткань как более предпочтительный биологический субстрат в сравнении с сывороткой крови. Однако изучение содержания фактора VEGF-A в сыворотке крови являлось статистически значимым и обладает практической ценностью.

Заключение

Таким образом, анализ полученных данных с использованием различных статистических методов позволил установить, что повышенная концентрация фактора роста эндотелия сосудов VEGF-A как в ткани яичников, так и в сыворотке крови являлась независимым предиктором летального исхода. Несмотря на большую значимость анализа опухолевого материала в отношении изменения содержания фактора VEGF A как предиктора неблагоприятного исхода заболевания, представляется возможным направить исследование на измерение данного фактора в сыворотке крови ввиду малой инвазивности данной процедуры и статистической значимости полученного нами результата.

При анализе концентрации эпидермального фактора роста EGF, фактора роста фибробластов FGF21, фактора некроза опухоли- α TNF- α и рецепторов sVEGF-R1, sEGFR не было выявлено корреляции с продолжительностью жизни пациенток с РЯ, ввиду чего их невозможно использовать в качестве предикторов летального исхода, несмотря на смену биологической среды определения.

Список литературы

1. Torre L.A., Trabert B., DeSantis C.E., Miller K.D., Samimi G., Runowicz C.D., Gaudet M.M., Jemal A., Siegel R.L. Ovarian cancer statistics, 2018 CA: a cancer journal for clinicians. 2018. vol. 68. no. 4. P. 284-296. DOI:10.3322/caac.21456.
2. Аксель Е.М. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований женской репродуктивной системы в России // Онкогинекология. 2015. № 1. С. 6-15.

3. Олейникова И.Н., Генс Г.П., Сирота Н.А., Шикина В.Е., Садикова О.Е., Киркин В.В., Назаренко З.Н. Качество жизни и дистресс у больных раком яичников // Паллиативная медицина и реабилитация. 2017. № 2. С. 25-27.
4. Жордания К.И., Гокадзе Н.Н., Савостикова М.В., Краснощекова Г.И., Паяниди Ю.Г., Сельчук В.Ю. Диагностическая значимость маркеров p53, p16, WT1 в аспирационном материале из полости матки у больных серозным раком яичников // Онкогинекология. 2019. № 1. С. 28-35.
5. Bai H., Li H., Li W., Gui T., Yang J., Cao D., Shen K. The PI3K/AKT/mTOR pathway is a potential predictor of distinct invasive and migratory capacities in human ovarian cancer cell lines. *Oncotarget*. 2015. vol. 6. no. 28. P. 25520. DOI: 10.18632/oncotarget.4550.
6. Кит О.И., Франциянц Е.М., Моисеенко Т.И., Вереникина Е.В., Черярина Н.Д., Козлова Л.С., Погорелова Ю.А. Факторы роста в ткани различных стадий рака яичников // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2017. Т. 12. № 1. С. 48-52.
7. Huang X., Xie C., Tang J., He W., Yang F., Tian W., Li J., Yang Q., Shen J., Xia L., Lan C. Adipose tissue area as a predictor for the efficacy of apatinib in platinum-resistant ovarian cancer: an exploratory imaging biomarker analysis of the AEROC trial. *BMC medicine*. 2020. vol. 18. no. 1. P. 1-10. DOI: 10.1186/s12916-020-01733-4.
8. Генинг С.О., Долгова Д.Р., Антонеева И.И., Абакумова Т.В., Колодий И.О., Генинг Т.П. Фактор роста эндотелия сосудов в клетках опухоли на фоне платиносодержащей химиотерапии при распространённом раке яичников // Казанский медицинский журнал. 2019. Т. 100. № 4. С. 583-588.
9. Камышов С.В., Нишанов Д.А., Пулатов Д.А., Юлдашева Н.Ш. Изучение маркеров апоптоза, пролиферации и ангиогенеза у больных раком яичника, получивших сопроводительную иммунотерапию // Злокачественные опухоли. 2017. Т. 7. № 1. С. 84-91.
10. Харченко В.В., Агарков Н.М., Коровин Е.Н., Иванов В.А., Будник И.В., Макконен К.Ф., Жернакова Н.И. Иммуноферментный и дискриминантный анализ в совершенствовании диагностики рака яичников в пожилом возрасте // Клиническая лабораторная диагностика. 2018. Т. 63. № 11. С. 707-710.
11. Falfiora E., Hatzoglou C., Gourgoulianis K.I., Zarogiannis S.G. Systematic review and meta-analysis of vascular endothelial growth factor as a biomarker for malignant pleural effusions. *Physiological reports*. 2016. vol. 4. no. 24. P. e12978. DOI: 10.14814/phy2.12978.
12. Arancillo M., Taechalertrpaisarn J., Liang X., Burgess K. Peptides: New, Easily Accessible Chemotypes For Interactions With Biomolecules. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2020. DOI: 10.1002/anie.202015203.

13. Donlon N.E., Sheppard A., Davern M., O'Connell F., Phelan J.J., Power R., Nugent T., Dinneen K., Aird J., Greene J., Selvadurai P.N., Bhardwaj A., Foley E.K., Ravi N., Donohoe C.L., Reynolds J.V., Lysaght J., O'Sullivan J., Dunne M.R. Linking Circulating Serum Proteins with Clinical Outcomes in Esophageal Adenocarcinoma—An Emerging Role for Chemokines. *Cancers*. 2020. vol. 12. no. 11. P. 3356. DOI: 10.3390/cancers12113356.
14. Hazem R.M., Mohamed A.A., Ghareb N., Mehanna E.T., Mesbah N.M., Abo-Elmatty D.M., Elgawish M.S. Anti-cancer activity of two novel heterocyclic compounds through modulation of VEGFR and miR-122 in mice bearing Ehrlich ascites carcinoma. *European Journal of Pharmacology*. 2020 P. 173747. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173747.