

Для цитирования: Франциянц Е.М., Моисеенко Т.И., Якубова Д.Ю., Черярина Н.Д., Меньшенина А.П., Вереникина Е.В., Адамян М.Л. Уровень белка He-4 и VEGF-A в первичной опухоли и метастазах рака яичников при инициальной химиотерапии препаратами платины. Сибирский онкологический журнал. 2021; 20(6): 69–77. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-6-69-77

For citation: Frantsiyants E.M., Moiseenko T.I., Yakubova D.Yu., Cheryarina N.D., Menshenina A.P., Verenikina E.V., Adamyan M.L. Influence of initial platinum-based chemotherapy on levels of He-4 protein and VEGF-A in primary tumors and metastases from ovarian cancer. Siberian Journal of Oncology. 2021; 20(6): 69–77. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-6-69-77

УРОВЕНЬ БЕЛКА HE-4 И VEGF-A В ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ И МЕТАСТАЗАХ РАКА ЯИЧНИКОВ ПРИ ИНИЦИАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ПРЕПАРАТАМИ ПЛАТИНЫ

Е.М. Франциянц, Т.И. Моисеенко, Д.Ю. Якубова, Н.Д. Черярина,
А.П. Меньшенина, Е.В. Вереникина, М.Л. Адамян

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России,
г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63. E-mail: darayakubova@yandex.ru

Аннотация

Введение. Белку He-4 в последнее время уделяется большое внимание из-за его диагностической и прогностической ценности при эпителиальном раке яичников, что обусловлено его патогномонической ролью при этом заболевании. Еще одним значимым патогенетическим фактором является фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), который играет ключевую роль в неоангиогенезе. **Цель исследования** – изучение содержания He-4 и VEGF-A в опухолевой и неизменной ткани яичника, сальнике и брюшине до и после неоадьювантной химиотерапии с включением препаратов платины. **Материал и методы.** В исследование включены 93 больных раком яичников T2–3NxM0–1 стадии, получивших хирургическое и химиотерапевтическое лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ, г. Ростова-на-Дону, из них у 42 больных лечение начато с неоадьювантной химиотерапии, за которой последовали операция и послеоперационная цитостатическая терапия; 51 пациентке лечение начинали с хирургического вмешательства, затем проводили химиотерапию. В тканях больных раком яичников определяли уровень He-4 и VEGF-A. В качестве контроля с целью определения референтных значений He-4 и VEGF-A в тканях явились образцы тканей 17 больных, прооперированных по поводу доброкачественной патологии. **Результаты.** Проведено сравнение между группами больных, получавших и не получавших неоадьювантную терапию, а также в группах больных в зависимости от эффективности цитостатического лечения. Оценку эффекта проводили через каждые 3 курса химиотерапии, используя шкалу RECIST 1.1. Показано, что уровень He-4 в первичных и метастатических тканях, пораженных и не пораженных опухолью, у больных раком яичников исходно повышен. При этом эффективность химиотерапевтического лечения напрямую связана с уровнем данного показателя, не изменяясь либо повышаясь при нечувствительных к лекарственному лечению опухолях. Уровень же VEGF-A значительно отличался в тканях, пораженных и не пораженных опухолью, что свидетельствует о значимом его патогномоничном эффекте не «до», а на этапах морфологической малигнизации. Динамика снижения VEGF-A в данном исследовании не зависела от эффекта химиотерапии. **Заключение.** Маркер He-4 – патогномоничный фактор развития рака яичников, предшествующий морфологическим признакам злокачественности и отражающий эффективность химиотерапии, тогда как VEGF-A является, скорее всего, следствием развития злокачественного процесса.

Ключевые слова: рак яичников, онкобелок He-4, VEGF-A, химиотерапия, платиночувствительность.

INFLUENCE OF INITIAL PLATINUM-BASED CHEMOTHERAPY ON LEVELS OF HE-4 PROTEIN AND VEGF-A IN PRIMARY TUMORS AND METASTASES FROM OVARIAN CANCER

E.M. Frantsiyants, T.I. Moiseenko, D.Yu. Yakubova, N.D. Cheryarina,
A.P. Menshenina, E.V. Verenikina, M.L. Adamyan

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia
63, 14-th liniya, 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: darayakubova@yandex.ru

Abstract

Introduction. Recently, the He-4 protein has received great attention due to its diagnostic and prognostic abilities in epithelial ovarian cancer. In addition to its diagnostic value, this protein is involved in the pathogenesis of ovarian cancer. Another significant pathogenetic factor is the vascular endothelial growth factor (VEGF) which plays a key role in neoangiogenesis. **The purpose of the study** focused on the analysis of He-4 and VEGF-A levels in tissues of ovarian cancer, in healthy contralateral ovaries and in common metastatic tumors in the omentum and peritoneum to determine the place and role of these tumor markers at the stages of carcinogenesis. **Material and Methods.** The study was performed using the abovementioned tissues of 93 patients with T2-3NxM0-1 ovarian cancer. 51 patients underwent surgery followed by chemotherapy. 42 patients received initial neoadjuvant chemotherapy followed by surgery and adjuvant cytostatic therapy. Tissue samples from 17 patients with benign diseases were used as the control for determining the reference values for He-4 and VEGF-A. A comparison was made between groups of patients with and without neoadjuvant therapy, as well as in groups of patients depending on the effectiveness of cytostatic treatment. **Results.** The levels of He-4 in primary and metastatic tissues affected and not affected by cancer were initially elevated in patients with ovarian cancer. The chemotherapy effectiveness directly correlated with the level of He-4 reduction, which did not change or increased in tumors resistant to medical treatment. The level of VEGF-A significantly differed in cancer and non-cancer tissues, which indicated its significant pathogenetic effect not "before", but at the stages of morphological malignization. The dynamics of VEGF-A decrease in this study did not depend on the chemotherapy effect. **Conclusion.** The He-4 marker is a pathognomonic factor in the development of ovarian cancer, preceding morphological signs of malignancy and reflecting the effectiveness of chemotherapy, while VEGF-A is most likely a consequence of the cancer development.

Key words: ovarian cancer, polychemotherapy, He-4 protein, VEGF-A, cytostatic therapy, platinum resistance of ovarian cancer.

Введение

Рак яичников (РЯ) характеризуется хроническим рецидивирующим течением и относится к злокачественным новообразованиям с высоким уровнем смертности (45 %), который характеризуется имплантационным ростом клеток и диссеминарованным метастазированием в брюшину и сальник [1]. Поскольку заболевание протекает бессимптомно на ранних стадиях, большинство случаев обычно выявляются на поздней стадии, что негативно влияет на выживаемость [2]. Несмотря на значительный прогресс в химиотерапии и хирургическом лечении РЯ, у большинства пациенток развивается рецидив или метастазирование, 5-летняя выживаемость больных, у которых диагностированы перитонеальные метастазы, составляет не более 30 % [3]. Известно, что прогрессирование опухоли координируется сложными взаимодействиями между опухолевыми клетками и их микроокружением [4]. Важно детализировать молекулярный механизм патогенеза РЯ для ранней диагностики и лечения с целью улучшения про-

гноза заболевания. Ангиогенез представляет собой неотъемлемое патогномическое явление при раке и взаимосвязан с распространением опухоли и ее метастазированием. В последние годы ангиогенезу уделялось значительное внимание с целью выявления мишеней для разработки эффективных противоопухолевых методов лечения. Такие молекулы включают, в том числе, фактор роста эндотелия сосудов – VEGF [5].

Для РЯ характерно имплантационное метастазирование с преимущественным поражением ткани большого сальника, париетальной и висцеральной брюшины брюшной полости и малого таза, капсулы печени, брюшины поддиафрагмального пространства. Существует мнение, что его распространение происходит через перитонеальное кровообращение, связанное с образованием асцита и плеврита, а не классического метастазирования по гематогенному пути [6]. Согласно гипотезе о «семенах и почве», предложенной английским хирургом С. Пейджетом в 1889 г., паттерн метастазирования не является случайным исходом.

Вместо этого мигрирующие опухолевые клетки – «семена» – имеют специфическое сродство к определенным органам и тканям – «почве» [7]. Пейджет утверждал, что «растения несут «семена» во всех направлениях, но семена могут жить и расти только в том случае, если они падают на благоприятную почву». Таким образом, он пришел к выводу, что метастазы образуются только тогда, когда опухолевые клетки и органы биологически совместимы. После частого пересмотра этой гипотезы в последние годы было сделано несколько новых открытий о внутренних свойствах опухолевых клеток и стромальных клеток их микроокружения, а также передаче перекрестных сигналов между первичной опухолью и раковыми отсевами, которые формируют специфический для органа паттерн метастазирования [8]. Однако происходит ли метастазирование РЯ исключительно посредством внутрибрюшинного контактного отсева или оно следует гипотезе «семя-почва», которая играет важную роль при локализации заболевания в брюшной полости?

Человеческий белок 4 эпидидимиса (He-4, Human Epididymis protein 4) также известный как белок 2 четырехдисульфидного домена ядра WAP, является продуктом гена WFDC2 [9]. Известно, что He-4 является опухолевым маркером РЯ с чувствительностью 80 % при пороге 150 пмоль/л [10]. Предыдущие исследования заложили основу клинического применения He-4 в качестве биомаркера и предиктора. Опубликованные данные показали, что концентрации He-4 в сыворотке крови значительно повышены у больных РЯ, по сравнению с пациентами с доброкачественными заболеваниями или здоровыми донорами [11], а сочетание He-4, СА125 и возраста может оптимизировать диагностику РЯ [12]. В то же время большинство исследований роли He-4 в регуляции биологического поведения РЯ оспариваются. Некоторые исследования показали, что He-4 может способствовать пролиферации, инвазии и метастазированию раковых клеток яичников [10]. Противоположный результат, представленный X. Kong et al., свидетельствует о том, что He-4 может подавлять пролиферацию клеток путем регуляции путей MAPK / PI3K / AKT и затем выполнять защитную функцию при прогрессировании РЯ [13]. A. Wang et al. продемонстрировали, что уровни экспрессии He-4 в ткани опухоли, сыворотке и моче больных РЯ значительно повышены [14]. Таким образом, He-4 функционирует как один из важных опухолевых маркеров при РЯ; тем не менее мало известно о функции и механизме He-4 в биологическом поведении опухоли.

Целью исследования явилось изучение содержания He-4 и VEGF-A в опухолевой и неизменной ткани яичника, сальнике и брюшине до и после неоадьювантной химиотерапии с включением препаратов платины.

Материал и методы

Клинический материал представлен 93 больными РЯ T2–3NxM0–1 стадий, получивших хирургическое и химиотерапевтическое лечение на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ, г. Ростова-на-Дону, из них у 42 больных лечение начато с неоадьювантной химиотерапии, за которой последовали операция и послеоперационная цитостатическая терапия. У 51 больной лечение начинали с хирургического вмешательства, затем проводили химиотерапию. Средний возраст больных – $60 \pm 1,9$ года. Все больные получили комбинированное лечение по стандартной программе, включающей операцию и химиотерапию по схеме: паклитаксел 175 мг/м² в/в в течение 3 ч в 1-й день, карбоплатин AUC 5–6 в течение 1 ч в 1-й день 21-дневного курса.

Последовательность этапов лечения зависела от клинического варианта заболевания (безасцитный, асцитный, полисерозитный) и исходной операбельности больных в оптимальном объеме. В этой связи больные были разделены на 2 группы: у 51 больной лечение начиналось с операции и завершалось курсами послеоперационной полихимиотерапии (ПХТ). Первым этапом лечения у 42 больных РЯ была трехкурсовая неоадьювантная полихимиотерапия (НАПХТ), с последующей операцией и 6 курсами ПХТ.

Диагноз у всех больных был верифицирован на догоспитальном этапе при цитологическом исследовании, материалом для которого послужили пунктаты дугласова пространства или асцитическая (плевральная) жидкость после пара- или плеврального пункционного исследования. Комплексное догоспитальное обследование проводилось согласно рекомендуемым стандартам и включало методы визуализации и определения уровня онкомаркеров Са-125 и He-4 в крови.

Хирургическое вмешательство всем больным выполнено в объеме: пангистерэктомия, оментэктомия, максимально возможное удаление видимых метастазов. Удаленные органы и ткани подвергались морфологическому исследованию. Во всех случаях диагностирована серозная цистаденокарцинома умеренной и низкой степени дифференцировки. В образцах первичной опухоли яичника, метастатических опухолей сальника и брюшины и неизмененных тканей яичника, сальника и брюшины исследовался уровень He-4 и VEGF-A методом ИФА. Особое внимание уделялось забору материала из не пораженного опухоли контралатерального яичника у больных РЯ. Для ИФА-анализа уровней белков He-4 VEGF-A производился интраоперационный забор образцов пораженных и не пораженных раковой опухолью тканей яичников, фрагментов большого сальника и париетальной брюшины.

Контроль эффективности лечения проводился по системе RECIST 1.1. После 3 курсов НАПХТ все больные с признаками полной или частичной

регрессии были отнесены в группу с VEGF-A достигнутым положительным эффектом, а больные со стабилизацией процесса или прогрессированием заболевания – в группу «без эффекта». У всех больных проводилась оценка безрецидивного периода выживаемости.

Определяли исходный уровень белков He-4 и VEGF-A в аналогичных тканях у 51 больной РЯ, не леченных до операции цитостатиками, а также показателей He-4 и VEGF-A под влиянием стандартной схемы НАПХТ карбоплатином и паклитакселом в изучаемых тканях у 42 больных РЯ.

Референтные значения уровней онкомаркера He-4 и маркера ангионеза VEGF-A установлены по изучению их показателей в условно интактных тканях яичников, брюшины и большого сальника, полученных при хирургическом лечении больных контрольной группы, которая представлена 17 пациентками с миомой матки менопаузального возраста.

Ткани гомогенизировали, получали 10 % цитозольную фракцию, приготовленную на 0,1М калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА. После центрифугирования образцы хранили при -80°C для анализов с помощью ИФА. Замороженные образцы медленно оттаивали при 4°C . За полчаса до экспериментов образцы оставались при комнатной температуре. Уровни He-4 и VEGF-A определяли с помощью стандартных тест-систем ИФА (Хема, Россия; Bendermedsystem, Австрия).

Все процедуры были одобрены Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ,

г. Ростова-на-Дону. Все больные подписывали информированное согласие на участие в данном исследовании.

Статистическая обработка материала проводилась с помощью программы Statistica 10,0 с определением средних значений с указанием стандартных отклонений. Значимость различий средних показателей оценивалась с помощью критерия суммы рангов Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Уровни He-4 и VEGF-A в ткани яичника, полученные при оперативном лечении пациенток с миомой матки, составили $60,8 \pm 2,3$ пм/г тк и $289,2 \pm 17,8$ пг/г соответственно. Уровни He-4 в ткани опухоли яичника и контралатерального непораженного яичника был выше в 16 раз и 4,6 раза соответственно, чем в ткани интактного яичника группы контроля. Аналогично, уровень VEGF-A в опухолевой ткани был выше в 17,5 раз, чем в группе контроля, однако в не пораженном опухолю контралатеральном яичнике уровень VEGF-A не имел значимых отличий от VEGF-A в интактном яичнике группы контроля (табл. 1).

Уровни He-4 и VEGF-A в ткани опухоли яичников после НАХТ были ниже соответственно в 5,5 и 52,7 раза в сравнении с аналогичными параметрами у больных до лечения. Тогда как после неэффективной НАХТ уровень He-4, напротив, был в 1,9 раза выше (по сравнению с показателем в опухоли до лечения), а уровень VEGF-A так же, как и при эффективной ХТ, был ниже, но лишь в 3,9 раза.

Таблица 1/Table 1

Различие уровней He-4 и VEGF-A в тканях яичников, пораженных и не пораженных злокачественным процессом, в зависимости от эффективности платиносодержащей химиотерапии
Differences between levels of He-4 and VEGF-A in tissues of the ovaries affected and not affected by the tumor depending on the effectiveness of platinum-based chemotherapy

Эффективность ХТ/ CT effect	Рак яичников/ Ovarian cancer				Непораженный яичник / Ovary not affected by the tumor			
	He-4 (пм/г тк)/ He-4 (pm/g of tissue)		VEGF-A (пг/г тк)/ VEGF-A (pg/g of tissue)		He-4 (пм/г тк)/ He-4 (pm/g of tissue)		VEGF-A (пг/г тк)/ VEGF-A (pg/g of tissue)	
	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT
Эффективная (85,7 %, n=36)/ Effective (85,7 %, n=36)		$178,3 \pm 8,3^1$		$95,8 \pm 8,4^1$		$72,1 \pm 8,9^1$		$78,9 \pm 7,5^1$
Неэффективная (14,3 %, n=6)/ Ineffective (14,3 %, n=6)	$972,0 \pm 102,1$	$1821,9 \pm 154,3^{1,2}$	$5052,5 \pm 496,8$	$1283,3 \pm 134,6^{1,2}$	$282,4 \pm 173,5$	$294,3 \pm 31,9^2$	$290,6 \pm 27,4$	$150,3 \pm 14,6^{1,2}$

Примечание: ¹ – различия статистически значимы по отношению к показателю без ХТ; ² – различия статистически значимы по отношению к показателю с эффектом ХТ.

Note: ¹ – statistically significant in comparison to the value without CT; ² – statistically significant compared to the value with CT effect.

Интересные результаты получены при изучении показателей в ткани яичника, не пораженного злокачественным процессом. В случае эффективности НАХТ уровни He-4 и VEGF-A, как и в случае опухолевой ткани, были в 3,9 раза и 3,7 раза ниже в сравнении с аналогичными параметрами у больных до лечения. В случае неэффективности НАХТ в ткани непораженного контрлатерального яичника уровни He-4 были равны уровню He-4 в ткани здорового яичника у пациенток контрольной группы, а VEGF-A даже ниже в 1,9 раза (табл. 1).

Уровни He-4 и VEGF-A в ткани сальника у больных контрольной группы составляли $13,7 \pm 1,4$ пм/г и $202,7 \pm 18,3$ пг/г соответственно. При сравнении показателей в группах обнаружено, что содержание He-4 в ткани метастатически измененного сальника и сальника, визуальное поражение злокачественным процессом, было выше в 25,5 и 14,3 раза соответственно. Уровень VEGF-A в ткани метастатически измененного сальника также был выше в 6 раз, а в ткани непораженного сальника не имел значимых отличий от аналогичных показателей в ткани интактного сальника в группе контроля.

В случае эффективной НАХТ уровни He-4 и VEGF-A в ткани метастатически пораженного сальника (табл. 2) оказались ниже в 2,1 и 4,5 раза по сравнению с аналогичными показателями у больных до лечения. При отсутствии эффекта от НАХТ уровень He-4 был выше в 3,5 раза, а VEGF-A – в 1,4 раза ниже, чем у больных до лечения. В ткани сальника, не пораженного метастазами, после эффективной НАХТ уровни He-4 и VEGF-A были в 7,6 и 4,4 раза ниже относительно показателей до лечения, в случае отсутствия эффекта уровни He-4 и VEGF-A соответствовали уровням до лечения.

Уровни He-4 и VEGF-A в ткани интактной брюшины у больных в группе контроля составили соответственно $31,2 \pm 2,3$ пм/г и $208,2 \pm 13,9$ пг/г. Обнаружено, что уровни He-4 в ткани метастатически измененной брюшины и брюшины, не пораженной макроскопически злокачественным процессом, были выше соответственно в 11,1 и 6,3 раза, по сравнению с уровнем He-4 в брюшине больных группы контроля. Уровень VEGF-A в ткани метастатически измененной брюшины также был в 6,2 раза выше, а в непораженной ткани брюшины не отличался от показателей в группе контроля.

В случае эффективной НАХТ уровни He-4 и VEGF-A в ткани метастатически пораженной брюшины были в 3,4 и 13,9 раза соответственно ниже, чем у больных до лечения. При неэффективности НАХТ уровень He-4 оказался выше (в 3,3 раза), чем у больных до лечения, а уровень VEGF-A в 3,1 раза ниже (табл. 3). В ткани брюшины больных РЯ, не пораженной метастазами, после эффективного инициального лечения уровни He-4 и VEGF-A снижались в 17,5 раза и 4 раза соответственно. В случае отсутствия эффекта от инициальной тера-

пии уровни He-4 и VEGF-A не имели достоверных отличий от значений без химиотерапии.

Таким образом, определены особенности изменения уровней онкофетального белка He-4 и маркера неоангиогенеза VEGF-A в тканях больных РЯ после инициального лечения с включением препаратов платины в зависимости от его эффективности.

Обсуждение

Белку эпидидимиса человека 4 (He-4) в последнее время уделяется большое внимание из-за его диагностических и прогностических способностей при эпителиальном РЯ. Со времени его включения в Алгоритм риска развития злокачественных новообразований яичников (ROMA) исследования были сосредоточены на его возможной роли при РЯ [15]. Также было показано его участие в патогенезе РЯ, включая влияние на пролиферацию, химиорезистентность, устойчивость к антиэстрогенам, адгезию, инвазию и миграцию клеток [10, 16].

В соответствии с этими результатами проведенное нами исследование показало, что уровни экспрессии He-4 в ткани опухоли яичников, сальника и брюшины при РЯ исходно значительно высокие. Эти изменения затрагивают как опухолевоизмененную ткань, так и ткани без признаков опухолевого роста макроскопически. Опухолевые ткани характеризовались более высокими уровнями исследуемых параметров:

Полученные результаты согласуются с данными литературы, где сообщалось, что экспрессия He-4 повышает пролиферацию и инвазию клеток, метастазирование и способность к росту опухолей, увеличивая злокачественный потенциал опухоли при РЯ [10]. Вместе с тем выявленное повышение уровня He-4 в неизмененных тканях (яичника, сальника и брюшины) у больных РЯ само по себе крайне интересно и свидетельствует о метаболических особенностях этих тканей, которые с высокой вероятностью могут способствовать последующей диссеминации опухоли в пределах брюшной полости. Согласно полученным нами данным, He-4 функционирует как один из важных опухолевых маркеров при РЯ, подготавливающих «почву» для активного заселения опухолевыми «семенами».

Биология перитонеальных метастазов при РЯ имеет определенные особенности из-за необычайной воспалительной и иммуносупрессивной среды в брюшной полости, сопровождающейся накоплением злокачественного асцита [17]. Согласно данным F. Miranda et al., в таких специфических обстоятельствах большой сальник, богатый жировой тканью, играет основную роль в модуляции патологического гомеостаза и способствует созданию метастатической среды для опухоли, тем самым способствуя прогрессированию [18].

Представленное исследование демонстрирует четкие различия в уровне He-4 при сравнении опухолевоизмененных тканей сальника и брю-

шины без признаков опухолевого поражения, в отношении сальника получены значимые различия ($p < 0,05$). Однако аналогичные параметры в опухолевоизмененном и неизменном яичнике могут свидетельствовать о более тесных взаиморегулирующих моментах патогенеза карцином яичника и возможной значительной роли He-4 на уровне самого органа. Появляется все больше фактов, свидетельствующих о том, что между опухолевыми клетками яичника и метастатическими клетками существует хорошо организованная связь [8]. Примечательно, что динамическое и реципрокное взаимодействие между этими клетками опосредуется секрецией продуктов метаболизма, включая

липиды, и широким разнообразием сигнальных молекул, стимулирующих рост опухоли, таких как цитокины, хемокины и факторы роста, что приводит к перитонеальному метастазированию РЯ как контактными, так и гематогенными путями [19].

В настоящем исследовании показано, что содержание VEGF-A в тканях, пораженных злокачественным процессом, значимо превышало уровень маркера в интактных тканях яичника, сальника и брюшины (в 6–17,5 раза). В отличие от He-4 уровень VEGF-A в тканях, не пораженных злокачественным процессом макроскопически, не имел значимых различий с показателями в тканях больных группы контроля. Очевидно, увеличение этого маркера ан-

Таблица 2/Table 2

Различие уровней He-4 и VEGF-A в ткани метастатически измененного сальника и сальника, не пораженного злокачественным процессом, в зависимости от эффективности платиносодержащей химиотерапии

Differences between levels of He-4 and VEGF-A in metastatic and in non-metastatic omental tissues depending on the effectiveness of platinum-based chemotherapy

Эффективность ХТ/ CT effect	Сальник с метастазами/ Omentum with metastases				Непораженный сальник/ Omentum without metastases			
	He-4 (пм/г тк)/ He-4 (pm/g of tissue)		VEGF-A (пг/г тк)/ VEGF-A (pg/g of tissue)		He-4 (пм/г тк)/ He-4 (pm/g of tissue)		VEGF-A (пг/г тк)/ VEGF-A (pg/g of tissue)	
	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT
Эффективная/ Effective	349,1 ± 24,5	164,3 ± 11,2 ¹	1286,2 ± 134,1	287,9 ± 26,8 ¹	196,3 ± 21,4	25,8 ± 2,8 ¹	521,3 ± 55,7	119,2 ± 13,2 ¹
Неэффективная/ Ineffective		1208,3 ± 98,7 ^{1,2}		860,1 ± 92,1 ^{1,2}		197,6 ± 21,3 ²		509,2 ± 48,3 ²

Примечание: ¹ – различия статистически значимы по отношению к показателю без ХТ; ² – различия статистически значимы по отношению к показателю с эффектом ХТ

Note: ¹ – statistically significant in comparison to the value without CT; ² – statistically significant compared to the value with CT effect

Таблица 3/Table 3

Различие уровней He-4 и VEGF-A в ткани метастатически измененной брюшины и брюшины, не пораженной злокачественным процессом, в зависимости от эффективности платиносодержащей химиотерапии

Differences between levels of He-4 and VEGF-A in metastatic and in non-metastatic peritoneal tissues depending on the effectiveness of platinum-based chemotherapy

Эффективность ХТ/ CT effect	Брюшина с метастазами/ Peritoneum with metastases				Непораженная брюшина/ Peritoneum without metastases			
	He-4 (пм/г тк)/ He-4 (pm/g of tissue)		VEGF-A (пг/г тк)/ VEGF-A (pg/g of tissue)		He-4 (пм/г тк)/ He-4 (pm/g of tissue)		VEGF-A (пг/г тк)/ VEGF-A (pg/g of tissue)	
	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT	Без ХТ/ Without CT	После ХТ/ After CT
Эффективная/ Effective	467,8 ± 51,3	139,2 ± 10,5 ¹	4477,7 ± 396,7	321,6 ± 33,8 ¹	132,9 ± 14,1	7,6 ± 0,8 ¹	195,3 ± 21,4	54,4 ± 6,1 ¹

Примечание: ¹ – различия статистически значимы по отношению к показателю без ХТ; ² – различия статистически значимы по отношению к показателю с эффектом ХТ.

Note: ¹ – statistically significant in comparison to the value without CT; ² – statistically significant compared to the value with CT effect.

гиогенеза определяется только при морфологически доказанной малигнизации клеток.

Рост метастатических узелков в брюшине и сальнике зависит от ангиогенеза. После активизации метастатического процесса диссеминированные опухолевые клетки в асцитной жидкости сначала взаимодействуют с самым внутренним слоем брюшины – мезотелием. После адгезии, проникновения в мезотелий и последующей инвазии в субмезотелиальную соединительную ткань опухолевые клетки способны индуцировать ремоделирование внеклеточного коллагенового матрикса (ЕСМ) и способствовать ангиогенезу как предварительному условию пролиферации и роста опухолевых клеток в виде узелков. В этом контексте выявлено вовлечение путей, основанных на передаче сигналов (VEGF), и других факторов [20–22]. Тем не менее мало известно о влиянии изменений уровня He-4 и VEGF на биологическое поведение РЯ при химиотерапии.

Устойчивость к химиотерапии является сложной проблемой при лечении РЯ. Большинство больных первоначально реагируют на химиотерапию производными платины и таксанами первой линии, но рецидив заболевания встречается достаточно часто [23]. Однако пациентки с рецидивом, чувствительным к препаратам платины, имеют более продолжительную ремиссию, что влияет на общую выживаемость [15].

Мы проанализировали уровни маркеров He-4 и VEGF-A в тканях без инициальной химиотерапии и после НАХТ с включением препаратов платины в зависимости от ее эффекта. Эффект от лечения соответствовал более низкому уровню He-4 в тканях опухоли. В тканях, не пораженных злокачественным процессом, He-4 также был ниже после эффективной НАХТ, в то же время при отсутствии эффекта от НАХТ уровень He-4 не изменялся

(яичник и сальник) либо увеличивался (брюшина). Несколько иная реакция отмечена в отношении VEGF-A: в тканях, пораженных злокачественным процессом, уровень показателя становился более низким, но вне зависимости от эффективности НАХТ, а в непораженных тканях уровень VEGF-A становился более низким, чем у больных до лечения в случае эффективного воздействия, либо не изменялся.

Ранее на доклинических моделях было показано, что сальник является основным местом роста и метастазирования внутрибрюшинных опухолей [24]. Доказано, что в дополнение к опухолевым клеткам подмножество гипоксических мезотелиальных клеток, экспрессирующих CD105, является возможным источником VEGF и FGF, которые могут способствовать ангиогенезу. Последующие исследования на доклинических моделях рака яичников подчеркнули роль VEGF-опосредованной неоваскуляризации и повышенной проницаемости сосудов брюшины, являющейся необходимым условием для формирования асцита.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют, что уровень He-4 в тканях может быть активным патогномоничным фактором изменений не только в опухолевой ткани при РЯ, но и в тканях без признаков поражения опухолью, возможно, предшествуя морфологическим признакам диссеминации по брюшине. Кроме того, полученные данные свидетельствуют о корреляции уровня He-4 в ткани с эффективностью проводимой НАХТ. Уровень VEGF в ткани четко взаимосвязан с характером морфологических изменений в исследуемых тканях и может рассматриваться в качестве неотъемлемого маркера неопластического процесса уже при наличии опухолевой трансформации.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Zhang L.Y., Chen Y., Jia J., Zhu X., He Y., Wu L.M. MiR-27a promotes EMT in ovarian cancer through active Wnt/ β -catenin signalling by targeting FOXO1. *Cancer Biomark.* 2019; 24(1): 31–42. doi: 10.3233/CBM-181229.
2. James N.E., Chichester C., Ribeiro J.R. Beyond the Biomarker: Understanding the Diverse Roles of Human Epididymis Protein 4 in the Pathogenesis of Epithelial Ovarian Cancer. *Front Oncol.* 2018 Apr 24; 8: 124. doi: 10.3389/fonc.2018.00124.
3. Vaughan S., Coward J.I., Bast R.C.Jr., Berchuck A., Berek J.S., Brenton J.D., Coukos G., Crum C.C., Drapkin R., Etemadmoghadam D., Friedlander M., Gabra H., Kaye S.B., Lord C.J., Lengyel E., Levine D.A., McNeish I.A., Menon U., Mills G.B., Nephew K.P., Oza A.M., Sood A.K., Stronach E.A., Walczak H., Bowtell D.D., Balkwill F.R. Rethinking ovarian cancer: recommendations for improving outcomes. *Nat Rev Cancer.* 2011 Sep 23; 11(10): 719–25. doi: 10.1038/nrc3144.
4. Gomes A.M., Carron E.C., Mills K.L., Dow A.M., Gray Z., Fecca C.R., Lakey M.A., Carmeliet P., Kittrell F., Medina D., Machado H.L. Stromal Gas6 promotes the progression of premalignant mammary cells. *Oncogene.* 2019 Apr; 38(14): 2437–2450. doi: 10.1038/s41388-018-0593-5.
5. Gavalas N.G., Lontos N., Trachana S.P., Bagratuni T., Arapinis C., Liacos C., Dimopoulos M.A., Bamias A. Angiogenesis-related pathways in the pathogenesis of ovarian cancer. *Int J Mol Sci.* 2013 Jul 30; 14(8): 15885–909. doi: 10.3390/ijms140815885.
6. Lengyel E. Ovarian cancer development and metastasis. *Am J Pathol.* 2010 Sep; 177(3): 1053–64. doi: 10.2353/ajpath.2010.100105.
7. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metastasis Rev.* 1989 Aug; 8(2): 98–101.
8. Yeung T.L., Leung C.S., Yip K.P., Au Yeung C.L., Wong S.T., Mok S.C. Cellular and molecular processes in ovarian cancer metastasis. A Review in the Theme: Cell and Molecular Processes in Cancer Metastasis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2015 Oct 1; 309(7): C444–56. doi: 10.1152/ajpcell.00188.2015.
9. Li J., Chen H., Mariani A., Chen D., Klatt E., Podratz K., Drapkin R., Broadus R., Dowdy S., Jiang S.W. HE4 (WFDC2) Promotes Tumor Growth in Endometrial Cancer Cell Lines. *Int J Mol Sci.* 2013 Mar 15; 14(3): 6026–43. doi: 10.3390/ijms14036026.
10. Zhu L., Zhuang H., Wang H., Tan M., Schwab C.L., Deng L., Gao J., Hao Y., Li X., Gao S., Liu J., Lin B. Overexpression of HE4 (human epididymis protein 4) enhances proliferation, invasion and metastasis of ovarian cancer. *Oncotarget.* 2016 Jan 5; 7(1): 729–44. doi: 10.18632/oncotarget.6327.
11. Hamed E.O., Ahmed H., Sedeek O.B., Mohammed A.M., Abd-Alla A.A., Abdel Ghaffar H.M. Significance of HE4 estimation in comparison with CA125 in diagnosis of ovarian cancer and assessment of treatment response. *Diagn Pathol.* 2013 Jan 23; 8: 11. doi: 10.1186/1746-1596-8-11.
12. Karlsen M.A., Høgdall E.V., Christensen I.J., Borgfeldt C., Kalapotharakos G., Zdravilova-Dubská L., Chovanec J., Lok C.A., Stiekema A., Mutz-Dehbalae I., Rosenthal A.N., Moore E.K., Schodin B.A., Sumpaco W.W., Sundfeldt K., Kristjansdóttir B., Zapardiel I., Høgdall C.K. A novel diagnostic index combining HE4, CA125 and age may improve triage of women with suspected ovarian cancer – An international multicenter study in women with an ovarian mass. *Gynecol Oncol.* 2015; 138(3): 640–6. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.06.021.

13. Kong X., Chang X., Cheng H., Ma R., Ye X., Cui H. Human epididymis protein 4 inhibits proliferation of human ovarian cancer cells via the mitogen-activated protein kinase and phosphoinositide 3-kinase/AKT pathways. *Int J Gynecol Cancer*. 2014 Mar; 24(3): 427–36. doi: 10.1097/IGC.0000000000000078.
14. Wang A., Jin C., Tian X., Wang Y., Li H. Knockdown of HE4 suppresses aggressive cell growth and malignant progression of ovarian cancer by inhibiting the JAK/STAT3 pathway. *Biol Open*. 2019 Sep 2; 8(9): bio043570. doi: 10.1242/bio.043570.
15. Ribeiro J.R., Gaudet H.M., Khan M., Schorl C., James N.E., Oliver M.T., DiSilvestro P.A., Moore R.G., Yano N. Human Epididymis Protein 4 Promotes Events Associated with Metastatic Ovarian Cancer via Regulation of the Extracellular Matrix. *Front Oncol*. 2018; 7: 332. doi: 10.3389/fonc.2017.00332.
16. James N.E., Beffa L., Oliver M.T., Borgstadt A.D., Emerson J.B., Chichester C.O., Yano N., Freiman R.N., DiSilvestro P.A., Ribeiro J.R. Inhibition of DUSP6 sensitizes ovarian cancer cells to chemotherapeutic agents via regulation of ERK signaling response genes. *Oncotarget*. 2019 May 21; 10(36): 3315–3327.
17. Bowtell D.D., Böhm S., Ahmed A.A., Aspuri P.J., Bast R.C.Jr., Beral V., Berek J.S., Birrer M.J., Blagden S., Bookman M.A., Brenton J.D., Chiappinelli K.B., Martins F.C., Coukos G., Drapkin R., Edmondson R., Fotopoulou C., Gabra H., Galon J., Gourley C., Heong V., Huntsman D.G., Iwanicki M., Karlan B.Y., Kaye A., Lengyel E., Levine D.A., Lu K.H., McNeish I.A., Menon U., Narod S.A., Nelson B.H., Nephew K.P., Pharoah P., Powell D.J.Jr., Ramos P., Romero I.L., Scott C.L., Sood A.K., Stronach E.A., Balkwill F.R. Rethinking ovarian cancer II: reducing mortality from high-grade serous ovarian cancer. *Nat Rev Cancer*. 2015 Nov; 15(11): 668–79. doi: 10.1038/nrc4019.
18. Miranda F., Mannion D., Liu S., Zheng Y., Mangala L.S., Redondo C., Herrero-Gonzalez S., Xu R., Taylor C., Chedom D.F., Karaminejadranjbar M., Albukhari A., Jiang D., Pradeep S., Rodriguez-Aguayo C., Lopez-Berestein G., Salah E., Abdul Azeez K.R., Elkins J.M., Campo L., Myers K.A., Klotz D., Bivona S., Dhar S., Bast R.C.Jr., Saya H., Choi H.G., Gray N.S., Fischer R., Kessler B.M., Yau C., Sood A.K., Motohara T., Knapp S., Ahmed A.A. Salt-Inducible Kinase 2 Couples Ovarian Cancer Cell Metabolism with Survival at the Adipocyte-Rich Metastatic Niche. *Cancer Cell*. 2016 Aug 8; 30(2): 273–289. doi: 10.1016/j.ccell.2016.06.020.
19. Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Юнусова Н.В., Иванова А.А. Асцит как предмет исследований при раке яичников. *Сибирский онкологический журнал*. 2019; 18(1): 116–123. [Villert A.B., Kolomiets L.A., Yunusova N.V., Ivanova A.A. Ascites as a subject of studies in ovarian cancer. *Siberian journal of oncology*. 2019; 18(1): 116–123. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-116-123.
20. Кит О.И., Франциянц Е.М., Моисеенко Т.И., Вереникина Е.В., Черярина Н.Д., Козлова Л.С., Погорелова Ю.А. Факторы роста семейства VEGF и FGF в сыворотке крови в динамике развития рака яичников. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25898> (дата обращения: 06.05.2020). [Kit O.I., Frantsiyants E.M., Moiseenko T.I., Verenikina E.V., Cheryarina N.D., Kozlova L.S., Pogorelova Yu.A. Growth factors of VEGF and FGF 21 family in blood serum in the ovarian cancer dynamics. *Sovremennye Problemy Nauki i Obrazovaniya*. 2017; 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25898> (cited: 06.05.2020). (in Russian)].
21. Weidle U.H., Birzele F., Kollmorgen G., Rueger R. Mechanisms and Targets Involved in Dissemination of Ovarian Cancer. *Cancer Genomics Proteomics*. 2016 11–12; 13(6): 407–423. doi: 10.21873/cgp.20004.
22. Motohara T., Masuda K., Morotti M., Zheng Y., El-Sahhar S., Chong K.Y., Wietek N., Alsaadi A., Karaminejadranjbar M., Hu Z., Artibani M., Gonzalez L.S., Katabuchi H., Saya H., Ahmed A.A. An evolving story of the metastatic voyage of ovarian cancer cells: cellular and molecular orchestration of the adipose-rich metastatic microenvironment. *Oncogene*. 2019 Apr; 38(16): 2885–98. doi: 10.1038/s41388-018-0637-x.
23. Foley O.W., Rauh-Hain J.A., del Carmen M.G. Recurrent epithelial ovarian cancer: an update on treatment. *Oncology (Williston Park)*. 2013; 27: 288–94.
24. Gerber S.A., Rybalko V.Y., Bigelow C.E., Lugade A.A., Foster T.H., Frelinger J.G., Lord E.M. Preferential attachment of peritoneal tumor metastases to omental immune aggregates and possible role of a unique vascular microenvironment in metastatic survival and growth. *Am J Pathol*. 2006 Nov; 169(5): 1739–52. doi: 10.2353/ajpath.2006.051222.

Поступила/Received 15.05.2020

Принята в печать/Accepted 20.11.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Франциянц Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9427-9928.

Моисеенко Татьяна Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела опухолей репродуктивной системы, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6341-0549.

Якубова Дарья Юрьевна, аспирант отделения онкогинекологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: darayakubova@yandex.ru.

Черярина Наталья Дмитриевна, врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 2189-3404.

Меньшенина Анна Петровна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела опухолей репродуктивной системы, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6845-4794.

Вереникина Екатерина Владимировна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением онкогинекологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6610-7824.

Адамян Мери Людвиговна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела опухолей репродуктивной системы, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9929-3414.

ВКЛАД АВТОРОВ

Франциянц Елена Михайловна: концепция и дизайн исследования, обработка материала, научное и техническое редактирование, сбор, анализ, интерпретация данных, подготовка статьи, обработка материала.

Моисеенко Татьяна Ивановна: концепция и дизайн исследования, написание текста, научное и техническое редактирование.

Якубова Дарья Юрьевна: обработка материала, написание текста, сбор, анализ, интерпретация данных, подготовка статьи.

Черярина Наталья Дмитриевна: обработка материала.

Меньшенина Анна Петровна: написание текста, научное и техническое редактирование, сбор, анализ, интерпретация данных, подготовка статьи.

Вереникина Екатерина Владимировна: сбор, анализ, интерпретация данных, подготовка статьи.
Адамян Мери Людвиговна: сбор, анализ, интерпретация данных, подготовка статьи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Elena M. Frantsiyants, DSc, Professor, Deputy General Director for Science, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-код: 9427-9928.

Tatiana I. Moiseenko, MD, DSc, Professor, Leading Researcher, Section of Reproductive Tumors, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-код: 6341-0549..

Darya Yu. Yakubova, Postgraduate, Department of Gynecological Oncology, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: darayakubova@yandex.ru.

Natalia D. Cheryarina, Doctor-laboratory assistant, Laboratory of Study of Tumor Pathogenesis, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-код: 2189-3404.

Anna P. Menshenina, MD, PhD, Leading Researcher, Section of Reproductive Tumors, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-код: 6845-4794.

Ekaterina V. Verenikina, MD, PhD, Head of Department of Gynecological Oncology, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-код: 6610-7824.

Meri L. Adamyan, MD, PhD, Researcher, Section of Reproductive Tumors, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-код: 9929-3414.

AUTHOR CONTRIBUTION

Elena M. Frantsiyants: research concept and design, material processing, scientific and technical editing, collection, analysis and interpretation of data, manuscript preparation.

Tatiana I. Moiseenko: research concept and design, writing, scientific and technical editing.

Darya Yu. Yakubova: material processing, writing, collection, analysis and interpretation of data, manuscript preparation.

Natalia D. Cheryarina: material processing.

Anna P. Menshenina: writing, scientific and technical editing, collection, analysis and interpretation of data, manuscript preparation.

Ekaterina V. Verenikina: collection, analysis and interpretation of data, manuscript preparation.

Meri L. Adamyan: collection, analysis and interpretation of data, manuscript preparation.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.