

УДК 616.006.04+618.1

ИНСУЛИНОПОДОБНЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА И ИФР-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ ЯИЧНИКОВ

© **Е.С. Герштейн, Э.Р. Исаева, Д.Н. Кушлинский,
Е.А. Короткова, В.Д. Ермилова, Е.К. Дворова,
К.П. Лактионов, Л.В. Адамян, Н.А. Огнерубов**

Ключевые слова: инсулиноподобный фактор роста-I; инсулиноподобный фактор роста-II; ИФР-связывающий белок-1; ИФР-связывающий белок-2; ИФР-связывающий белок-3; опухоли яичников.

Содержание инсулиноподобных факторов роста (ИФР-I, -II) и ИФР-связывающих белков (ИФРСБ-1, -2, -3) определено в сыворотке крови 44 больных раком, 11 пограничными и 12 доброкачественными опухолями яичников с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа «Mediagnost». В контрольную группу вошли 33 практически здоровых женщины. Уровень ИФР-I достоверно снижен, а ИФРСБ-1 – повышен в сыворотке крови больных раком яичников по сравнению со всеми остальными группами. Уровень ИФРСБ-2 повышен у больных раком и пограничными опухолями по сравнению с контролем и группой больных доброкачественными опухолями яичников. Взаимосвязи большинства исследованных показателей с клинико-морфологическими особенностями рака яичников не обнаружено. Таким образом, выявлены нарушения баланса ИФР/ИФРСБ у больных раком яичников и показано, что ИФРСБ-2 – потенциальный серологический маркер рака яичников с чувствительностью 90 % при 90 % специфичности.

Рак яичников – одна из наиболее распространенных злокачественных опухолей женской репродуктивной системы, при этом у большинства больных заболевание диагностируется на достаточно поздних стадиях, когда опухоль уже распространена по брюшине. Высокий метастатический и инвазивный потенциалы рака яичников определяют необходимость углубленного изучения механизмов роста и распространения этой опухоли, знание которых могло бы стать основой для прогнозирования результатов стандартного лечения больных и включения в схемы препаратов, целенаправленно воздействующих на регуляторные молекулы.

Важнейшую роль в возникновении и прогрессии различных злокачественных опухолей играет сигнальная система инсулиноподобных факторов роста (ИФР). Она включает: ИФР 1 и 2 типа (ИФР-I и ИФР-II) – митогенные пептиды, высокомолекулярные друг другу и инсулину, синтезирующиеся в печени и некоторых других тканях под влиянием гормона роста и воздействующие на периферические ткани, распространяясь по организму с кровью (центральный или эндокринный механизм действия); их трансмембранные клеточные рецепторы и ИФР-связывающие белки (ИФРСБ) крови. ИФР синтезируются также клетками различных опухолей и являются в этом случае ауто/паракринными медиаторами, опосредующими рост, метастазирование и антиапоптотические ответы злокачественных клеток. ИФР, рецепторы ИФР и ИФРСБ образуют сложную сеть взаимодействий как между собой, так и с другими биологическими регуляторами роста и выживаемости клеток. В настоящее время известно шесть ИФРСБ, связывающих ИФР с одинаковым или даже большим сродством, чем ИФР-рецепторы. ИФРСБ модулируют биологическую доступность и активность ИФР несколькими способами: осуществляют перенос ИФР из

периферической крови к тканям-мишеням (ИФРСБ-1, -2, -4), поддерживают резервный уровень ИФР в крови (главным образом ИФРСБ-3), усиливают или ингибируют эффекты ИФР, а также опосредуют некоторые ИФР-независимые биологические эффекты. В различных физиологических условиях ИФРСБ могут как стимулировать, так и подавлять эффекты ИФР либо продлевая время полужизни факторов роста, либо конкурируя с рецепторами за их связывание. Активность самих ИФРСБ и опосредованные клеточные эффекты ИФР регулируются специфическими протеазами, в частности, сериновыми протеазами и матриксными металлопротеазами, которые увеличивают биодоступность ИФР, гидролизуют ИФРСБ до небольших фрагментов, обладающих меньшим сродством к ИФР.

Сигнальная система ИФР играет важную роль как в нормальном функционировании яичников [1], так и в возникновении и прогрессии злокачественных эпителиальных опухолей [2]. Все компоненты этой системы экспрессируются в клетках рака яичников и являются значимыми факторами прогноза заболевания [3–5]. В то же время роль циркулирующих в периферической крови ИФР и ИФРСБ в возникновении и прогрессии рака яичников неоднозначна. Одной из важнейших причин для исследования роли ИФР-сигнальной системы при раке яичников является возможность использования специфических («таргетных») ингибиторов для подавления ее активности [6–8].

Цель данного исследования – сравнительная оценка содержания ИФР-I, -II и ИФРСБ 1, 2 и 3 типа в сыворотке крови больных различными новообразованиями яичников, а также анализ взаимосвязи изученных показателей с основными клинико-морфологическими особенностями рака яичников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКИ

В исследование вошли 44 больных раком, а также 11 пограничными и 12 доброкачественными новообразованиями яичников; контрольную группу составили 33 практически здоровых женщины. Все обследованные группы были сравнимы по возрасту. По гистологическому строению 3 доброкачественные опухоли принадлежали к серозному типу, 4 – к эндометриoidному, 5 имели различные другие гистологические типы. Пограничные опухоли относились преимущественно к серозному (6) или муцинозному (3) типу. 72 % злокачественных опухолей представляли собой серозные аденокарциномы. У 8 больных раком яичников выявлена I стадия заболевания по классификации FIGO, у 4 – II, у остальных пациенток был распространенный процесс с преобладанием III стадии (18 больных).

Содержание ИФР-I, -II и ИФРСБ-1, -2, -3 определяли в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, с помощью стандартных наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа производства компании Mediagnost (Германия) в соответствии с инструкциями производителей. Измерения проводили на автоматическом анализаторе ВЕР-2000 (Siemens Healthcare, Германия). Концентрацию исследованных показателей в сыворотке крови выражали в нг/мл.

Данные обрабатывали с помощью программы «Statistica 7.0». В связи с тем, что распределение большинства исследованных показателей отличалось от нормального, при сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические методы: критерии Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса, тест корреляции рангов Спирмена (R). Различия и корреляции считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сопоставив содержание ИФР и ИФРСБ в сыворотке крови больных доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями яичников и женщин контрольной группы (табл. 1), выявили достоверное снижение медианного уровня ИФР-I и увеличение уровня ИФРСБ-1 в сыворотке крови больных раком яичников по сравнению со всеми остальными группами пациенток, тогда как уровень ИФР-II был практически одинаковым во всех группах. Уровень ИФРСБ-2

был повышен в сыворотке крови больных раком и пограничными опухолями яичников как по сравнению с контролем, так и по сравнению с группой больных доброкачественными новообразованиями. Наиболее высокий уровень ИФРСБ-3 выявлен в сыворотке крови женщин контрольной группы, а самый низкий – у больных раком яичников, однако достоверных различий между группами не выявлено, и в целом тенденция не достигала уровня статистической значимости ($p = 0,059$). Аналогичные изменения уровня ИФР-I наблюдали у больных другими опухолями репродуктивной системы – раком молочной железы [9] и раком шейки матки [10]. Выявленные закономерности соответствуют также данным литературы о содержании ИФР-I и ИФРСБ в сыворотке крови больных раком яичников [11–13], но так же, как и эти данные, находятся в определенном противоречии с результатами некоторых эпидемиологических исследований, свидетельствующих о связи высоких сывороточных уровней ИФР-I с риском развития рака яичников в определенных возрастных группах [14]. Следует, однако, отметить, что совместный анализ данных трех когортных исследований, проведенный в работе [15], не подтвердил влияния компонентов системы ИФР на риск развития рака яичников.

Выявлена отрицательная корреляционная связь уровня ИФР-I в сыворотке крови всех больных новообразованиями яичников с уровнями ИФРСБ-1 ($R = -0,45$; $p = 0,0004$) и ИФРСБ-2 ($R = -0,43$; $p = 0,008$) и положительная взаимосвязь уровней ИФР-I и ИФРСБ-3 ($R = 0,57$; $p = 0,00004$). Уровни ИФРСБ-1 и ИФРСБ-2 также положительно коррелировали между собой ($R = 0,65$; $p = 0,00002$). Аналогичные взаимосвязи обнаружены и при анализе группы больных раком яичников. В то же время в сыворотке крови женщин контрольной группы не выявлено взаимосвязи уровня ИФР-I ни с одним из изученных ИФРСБ, тогда как уровень ИФР-II положительно коррелировал с ИФРСБ-3. Совокупность этих данных свидетельствует о нарушении баланса между ИФР и связывающими их белками крови у больных раком и другими новообразованиями яичников и косвенно отражает различную роль ИФРСБ-1 и ИФРСБ-2, с одной стороны, и ИФРСБ-3 – с другой, в регуляции биодоступности ИФР.

Потенциально значимыми серологическими маркерами рака яичников оказались только ИФРСБ-1 и ИФРСБ-2, уровень которых повышен у больных раком

Таблица 1

Содержание ИФР-I, ИФР-II и ИФРСБ-1, 2, 3 в сыворотке крови больных доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями яичников

Обследованные группы	n	ИФР-I	ИФР-II	ИФРСБ-1	ИФРСБ-2	ИФРСБ-3
Контроль (группа 0)	33	120 104–160	855 618–1158	4,21 2,09–10,5	144 123–224	4788 4160–5550
Больные доброкачественными опухолями яичников (группа 1)	12	130 82,9–184	772 687–874	2,49 0,54–5,52	202 170–222	1367 1185–1855
Больные пограничными опухолями яичников (группа 2)	11	124 82,7–162	883 633–1171	5,52 0,52–11,0	929 268–1121	1567 1110–2341
Больные раком яичников (группа 3)	44	86,3 56,5–120	770 638–1199	16,7 6,8–36,9	913 564–1861	1027 0–1935

Примечания: представлены медианы и квартили (25–75 %) (нг/мл). ИФР-I: $p_{0vs3} = 0,0016$; $p_{1vs3} = 0,021$; $p_{2vs3} = 0,03$. ИФРСБ-1: $p_{0vs3} = 0,04$; $p_{1vs3} = 0,0003$; $p_{2vs3} = 0,0005$; $p_{3vs3} = 0,011$. ИФРСБ-2: $p_{0vs2} = 0,0009$; $p_{0vs3} = 0,00001$; $p_{1vs2} = 0,012$; $p_{1vs3} = 0,001$.

Таблица 2

Чувствительность ИФРСБ-1 и ИФРСБ-2 как серологических маркеров рака яичников при различных уровнях специфичности

Маркер	Специфичность, %	Пороговое значение, нг/мл	Чувствительность, %
ИФРСБ-1	95	14,9	51
	90	12,5	54
	80	12,0	56
	70	9,0	61
ИФРСБ-2	95	535	76
	90	320	90
	80	248	95
	70	206	95

(оба маркера) и пограничными опухолями (ИФРСБ-2). Для оценки диагностической значимости рассчитали их чувствительность при различных уровнях специфичности (табл. 2). Оказалось, что чувствительность ИФРСБ-1 при приемлемом уровне специфичности (70 % и более) не превышает 61 %, тогда как ИФРСБ-2 обладает достаточно высокой чувствительностью (76–95 %) при специфичности 70–95 %, соответственно. Оптимальным пороговым уровнем этого маркера является, на наш взгляд, показатель 320 нг/мл, при котором и чувствительность, и специфичность составляют 90 %.

Дополнительным свидетельством в пользу возможности использования ИФРСБ-2 в качестве серологического маркера рака яичников является положительная взаимосвязь его содержания в сыворотке крови со стадией рака яичников ($R = 0,52$; $p = 0,008$) и положительная корреляция уровня данного маркера с показателями классического маркера рака яичников СА-125 ($R = 0,39$; $p = 0,041$). Уровни остальных исследованных компонентов системы ИФР не были связаны ни со стадией заболевания по классификации FIGO, ни с уровнем СА-125. Кроме того, детальный анализ взаимосвязей уровней всех исследованных белков с основными показателями распространенности рака яичников – размером первичной опухоли, наличием и характером диссеминации по брюшине и метастазов в большом саленке, наличием и объемом асцита – также не выявил каких-либо достоверных корреляций. Не обнаружено и зависимости сывороточных уровней ИФР/ИФРСБ от гистологического строения и степени дифференцировки опухоли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, сравнительное иммуноферментное исследование содержания ИФР-I, ИФР-II и ИФРСБ 1, 2 и 3 типа в сыворотке крови больных различными новообразованиями яичников и здоровых женщин продемонстрировало существенные нарушения баланса ИФР/ИФРСБ у больных раком яичников, свидетельствующие об увеличении биодоступности ИФР для опухолевых клеток, при отсутствии выраженных изменений концентрации самих факторов роста (ИФР-II) или даже ее снижении (ИФР-I). Показано, что ИФРСБ-2 является потенциальным серологическим маркером рака яичников, концентрация которого зависит от стадии заболевания и коррелирует с показателями СА-125,

а чувствительность при 90 % специфичности составляет также 90 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Druckmann R., Rohr U.D.* IGF-1 in gynaecology and obstetrics: update 2002 // *Maturitas*. 2002. V. 41. № 1. P. 65-83.
2. *Brokaw J., Katsaros D., Wiley A. et al.* IGF-I in epithelial ovarian cancer and its role in disease progression // *Growth Factors*. 2007. V. 25. № 5. P. 346-354.
3. *Huang G.S., Brouwer-Visser J., Ramirez M.J. et al.* Insulin-like growth factor 2 expression modulates Taxol resistance and is a candidate biomarker for reduced disease-free survival in ovarian cancer // *Clin. Cancer Res*. 2010. V. 16. № 11. P. 2999-3010.
4. *Sayer R.A., Lancaster J.M., Pittman J. et al.* High insulin-like growth factor-2 (IGF-2) gene expression is an independent predictor of poor survival for patients with advanced stage serous epithelial ovarian cancer // *Gynecol. Oncol*. 2005. V. 96. № 2. P. 355-361.
5. *Spentzos D., Cannistra S.A., Grall F. et al.* IGF axis gene expression patterns are prognostic of survival in epithelial ovarian cancer // *Endocr. Relat. Cancer*. 2007. V. 14. № 3. P. 781-790.
6. *Beauchamp M.C., Yasmeen A., Knafo A., Gotlieb W.H.* Targeting insulin and insulin-like growth factor pathways in epithelial ovarian cancer // *J. Oncol*. 2010. V. 2010. P. 257058.
7. *Bruchim I., Werner H.* Targeting IGF-1 signaling pathways in gynecologic malignancies // *Expert. Opin. Ther. Targets*. 2013. V. 17. № 3. P. 307-320.
8. *Westin S.N., Herzog T.J., Coleman R.L.* Investigational agents in development for the treatment of ovarian cancer // *Invest. New Drugs*. 2012. V. 31. № 1. P. 213-229.
9. *Масляев А.В., Костылева О.И., Герумейн Е.С. и др.* Инсулиноподобные факторы роста в сыворотке крови больных раком молочной железы // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2012. № 10. С. 16-20.
10. *Короленкова Л.И., Кушлинский Д.Н., Герумейн Е.С. и др.* Инсулиноподобные факторы роста в сыворотке крови больных цервикальной интраэпителиальной гиперплазией и инвазивным раком шейки матки как перспективные маркеры прогрессии заболевания // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2012. № 10. С. 21-35.
11. *Baron-Hay S., Boyle F., Ferrier A., Scott C.* Elevated serum insulin-like growth factor binding protein-2 as a prognostic marker in patients with ovarian cancer // *Clin. Cancer Res*. 2004. V. 10. № 5. P. 1796-1806.
12. *Katsaros D., Yu H., Levesque M.A. et al.* IGFBP-3 in epithelial ovarian carcinoma and its association with clinico-pathological features and patient survival // *Eur. J. Cancer*. 2001. V. 37. № 4. P. 478-485.
13. *Waksmanski B., Dudkiewicz J., Kowalski T.* Changes in insulin-like growth factor I, 17 β -estradiol, and progesterone in postmenopausal women with benign and malignant ovarian tumours // *Med. Sci. Monit*. 2001. V. 7. № 5. P. 919-923.
14. *Peeters P.H., Lukanova A., Allen N. et al.* Serum IGF-I, its major binding protein (IGFBP-3) and epithelial ovarian cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) // *Endocr. Relat. Cancer*. 2007. V. 14. № 1. P. 81-90.
15. *Tworoger S.S., Lee I.M., Buring J.E. et al.* Insulin-like growth factors and ovarian cancer risk: a nested case-control study in three cohorts // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 2007. V. 16. № 8. P. 1691-1695.

БЛАГОДАРНОСТИ: Исследование поддержано РФФИ, грант № 12-03-00401.

Поступила в редакцию 24 октября 2014 г.

Gerstein E.S., Isaeva E.R., Kushlinsky D.N., Korotkova E.A., Ermilova V.D., Dvorova E.K., Laktionov K.P., Adamyan L.V., Ognerubov N.A. INSULIN-LIKE GROWTH FACTORS AND SERUM IGF BINDING PROTEINS IN OVARIAN TUMOR PATIENTS

IGF-I, -II, IGFBP 1, 2 and 3 levels were measured with standard ELISA kits (Mediagnost) in blood serum of 44 ovarian cancer, 12 benign and 11 borderline ovarian tumor patients. Control group comprised 33 practically healthy women. Serum IGF-1 content in ovarian cancer patients was significantly lower, and IGFBP-1 content – higher than in all other groups. IGFBP-2 level was increased both in ovarian cancer and borderline tumor groups as compared to control and benign ovarian tumor patients. No significant associations were found between the majority of parameters studied and main clinical-pathologic charac-

teristics of ovarian cancer. Thus, disturbances in IGFs/IGBPs balance were revealed in blood serum of ovarian cancer patients, and IGFBP-2 proved to be a potential diagnostic serological marker with 90 % specificity and 90 % sensitivity.

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

Герштейн Елена Сергеевна, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии, e-mail: esgershtein@gmail.com

Gerstein Elena Sergeevna, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation, Doctor of Biology, Professor, Leading Scientific Worker of Laboratory of Clinical Biochemistry, e-mail: esgershtein@gmail.com

Исаева Эмилия Рагимовна, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, аспирант, отделение опухолей женской репродуктивной системы, e-mail: dr.isaeva@inbox.ru

Isaeva Emilia Ragimovna, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation, Post-graduate Student, Department of Tumors of Female Reproductive System, e-mail: dr.isaeva@inbox.ru

Кушлинский Дмитрий Николаевич, Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, г. Москва, Российская Федерация, врач-онкогинеколог отделения комбинированных и комплексных методов лечения гинекологических заболеваний, e-mail: dnkushlinskiy@mail.ru

Kushlinsky Dmitriy Nikolayevich, Scientific Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, Moscow, Russian Federation, Doctor Oncogynecologist of Combined and Integrated Methods of Treatment of Gynecological Diseases Department, e-mail: dnkushlinskiy@mail.ru

Короткова Екатерина Андреевна, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории клинической биохимии, e-mail: esgershtein@gmail.com

Korotkova Ekaterina Andreyevna, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation, Candidate of Biology, Junior Scientific Worker of Laboratory of Clinical Biochemistry, e-mail: esgershtein@gmail.com

Ермилова Валерия Дмитриевна, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела патологической анатомии опухолей человека, e-mail: esgershtein@gmail.com

Ernilova Valeria Dmitriyevna, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation, Candidate of Medicine, Leading Scientific Worker of Department of Pathological Anatomy of Human Tumors, e-mail: esgershtein@gmail.com

Дворова Елена Кузьминична, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, ведущий инженер лаборатории клинической биохимии, e-mail: esgershtein@gmail.com

Dvorova Elena Kuzminichna, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation, Leading Engineer of Laboratory of Clinical Biochemistry, e-mail: esgershtein@gmail.com

Лактионов Константин Павлович, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, доктор медицинских наук, профессор, зав. отделением опухолей женской репродуктивной системы, e-mail: esgershtein@gmail.com

Laktionov Konstantin Pavlovich, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation, Doctor of Medicine, Professor, Head of Department of Tumors of Female Reproductive System, e-mail: esgershtein@gmail.com

Адамян Лейла Владимировна, Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, г. Москва, Российская Федерация, доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН, зам. директора по научной работе, e-mail: l_adamyan@oparina4.ru

Adamyan Leila Vladimirovna, Scientific Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, Moscow, Russian Federation, Doctor of Medicine, Professor, Academician of RAMS, Vice Director for Scientific Work, e-mail: l_adamyan@oparina4.ru

Огнерубов Николай Алексеевич, Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, г. Тамбов, Российская Федерация, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой онкологии, оперативной хирургии и топографической анатомии, e-mail: ognerubov_n.a@mail.ru

Ognerubov Nikolay Alekseyevich, Tambov State University named after G.R. Derzhavin, Tambov, Russian Federation, Doctor of Medicine, Professor, Head of Oncology, Operative Surgery and Topographical Anatomy Department, e-mail: ognerubov_n.a@mail.ru